

Protocolo de validación para la determinación de vapores orgánicos en aire exhalado mediante su concentración en un adsorbente sólido

MTA/PV - IV(2)/98

Palabras clave: Gases, vapores orgánicos, aire, adsorbentes, sistemas activos, validación.

Índice

0. INTRODUCCIÓN

1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

2. DEFINICIONES

3. MATERIALES

3.1. Reactivos

3.2. Aparatos

4. PRUEBAS INTRALABORATORIO

4.1. Selección del método analítico

4.2. Establecimiento de las condiciones de muestreo

4.3. Selección del procedimiento de desorción

4.4. Influencia de la concentración sobre el procedimiento de medida

4.5. Estudio de la conservación de las muestras

5. REQUISITOS INTRALABORATORIO

6. PRUEBAS INTERLABORATORIOS

7. INFORME DEL PROCESO DE VALIDACIÓN

8. BIBLIOGRAFÍA



0. INTRODUCCIÓN

La validación de un procedimiento de medida establece, mediante estudios sistemáticos de laboratorio, que las características de dicho procedimiento cumplen las especificaciones relativas al uso previsto de los resultados analíticos. El proceso de validación permite el conocimiento de las características de funcionamiento del método y proporciona un alto grado de confianza en el mismo y en los resultados obtenidos al aplicarlo.

A fin de establecer los procedimientos de medida utilizados para la determinación de la concentración de gases y vapores orgánicos en aire exhalado es necesario prefiar unos criterios de comportamiento que incluyan, entre otros, los valores máximos del sesgo y de la precisión que se deben conseguir bajo condiciones de laboratorio similares a las reales. Estos criterios también deberán incluir posibles influencias ambientales, entre las que cabe destacar la humedad, dado el tipo de muestra a recoger.

1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Este protocolo especifica los requisitos generales de comportamiento que deben cumplir los procedimientos de medida para la determinación de la concentración de vapores orgánicos en aire exhalado y se aplica a todos los procedimientos de medida con etapas separadas de muestreo y, en su caso, selección de la fracción de aire exhalado, mediante un sistema activo, captación en un adsorbente sólido y posterior análisis, incluyendo el transporte y almacenamiento de muestras.

2. DEFINICIONES

En este protocolo se utilizan los siguientes términos según las definiciones que se dan a continuación:

Aire exhalado final

Es la fracción de aire exhalado recogida siguiendo un procedimiento predeterminado. Esta fracción es la que mejor se puede identificar con la fracción alveolar.

Agente químico

Es el gas o vapor susceptible de producir un efecto adverso para la salud.

Xenobiótico

Cualquier sustancia con actividad biológica, extraña al organismo y presente en el mismo como consecuencia de la exposición laboral a un determinado agente químico.

Exposición (por inhalación)

Situación en la que el agente químico está presente en el aire inhalado por una persona.

Valor límite biológico (VLB)

Es un valor de referencia de la concentración del xenobiótico o de sus metabolitos en el aire exhalado, propuesto o adoptado como guía para la evaluación del riesgo potencial para la salud en el práctica de la Higiene Industrial.

Valor verdadero

Valor "verdadero" o aceptado es la concentración del agente químico calculada a partir de los parámetros de la atmósfera, siempre que el valor de la concentración media indicada por un método independiente (corregida para cualquier sesgo conocido) esté dentro de $\pm 10\%$ del valor calculado.

Sesgo

Es la desviación o diferencia de los resultados obtenidos aplicando un procedimiento de medida con respecto al valor aceptado como referencia o valor verdadero. El sesgo es una expresión de la inexactitud del método y representa el error sistemático total.

Precisión

Es el grado de concordancia entre los resultados obtenidos aplicando el método repetidas veces, bajo condiciones determinadas. La precisión sólo depende de la distribución de errores aleatorios.

Intervalo de medida

Es el intervalo de concentraciones para las cuales el sesgo y la precisión de un procedimiento de medida están dentro de los límites especificados.

Procedimiento de medida

Procedimiento utilizado para el muestreo y análisis de uno o varios agentes químicos en el aire, incluyendo el almacenamiento y el transporte de la muestra.

Volumen de ruptura

El volumen de ruptura del tubo adsorbente se define como el volumen de aire contaminado que puede pasarse a través de la primera sección del tubo, antes de que la concentración del contaminante en el aire eluyente alcance el 5% de la concentración de entrada.

Eficacia de desorción

Es la relación entre la masa de contaminante desorbida de un tubo de muestreo y la masa adsorbida.

Validación

Es el proceso para evaluar las características de funcionamiento de un procedimiento de medida y verificar que se cumplen los criterios exigidos a los datos.

Repetibilidad (r)

a. Cualitativamente

Es el grado de concordancia entre resultados sucesivos obtenidos con el mismo método sobre una materia idéntica sometida al ensayo, en las mismas condiciones (siempre el mismo operador, igual aparato, igual laboratorio y en pequeños intervalos de tiempo).

b. Cuantitativamente

Es el valor por debajo del cual está situado, con una probabilidad especificada, el valor absoluto de la diferencia entre dos resultados individuales obtenidos en las condiciones anteriormente expuestas.

En ausencia de otra indicación se entenderá que la probabilidad es del 95%.

Reproducibilidad (R)

a. Cualitativamente

Es el grado de concordancia entre dos resultados individuales obtenidos con el mismo método sobre una materia idéntica sometida al ensayo, pero en condiciones diferentes (operadores distintos, aparatos diferentes, distintos laboratorios y/o épocas diferentes).

b. Cuantitativamente

Es el valor por debajo del cual está situado, con una probabilidad especificada, el valor absoluto de la diferencia entre dos resultados individuales obtenidos en las condiciones anteriormente expuestas.

En ausencia de otra indicación se entenderá que la probabilidad es del 95%.

Incertidumbre de la medida

Estimación que caracteriza el intervalo de valores en el que se sitúa generalmente, con una determinada probabilidad, el valor verdadero de la magnitud medida.

La incertidumbre de la medida incluye, en general, varios componentes. Algunos pueden estimarse a partir de la distribución estadística de los resultados de una serie de mediciones y pueden caracterizarse por la desviación típica muestral. La estimación de otros componentes solamente puede basarse en la experiencia o en otras informaciones.

Incertidumbre global

Es una cantidad utilizada para caracterizar, como un todo, la incertidumbre del resultado dado por un equipo o un procedimiento de medida. Se expresa, en porcen taje, por una combinación del sesgo y de la precisión, generalmente de acuerdo con la fórmula:

$$\frac{|\bar{X} - x_{\text{ref}}| + 2s}{x_{\text{ref}}} \times 100$$

donde:

\bar{X} es el valor medio de los resultados de un número n de mediciones

x_{ref} es el valor de referencia aceptado o verdadero

s es la desviación típica de las n mediciones

3. MATERIALES

3.1. Reactivos

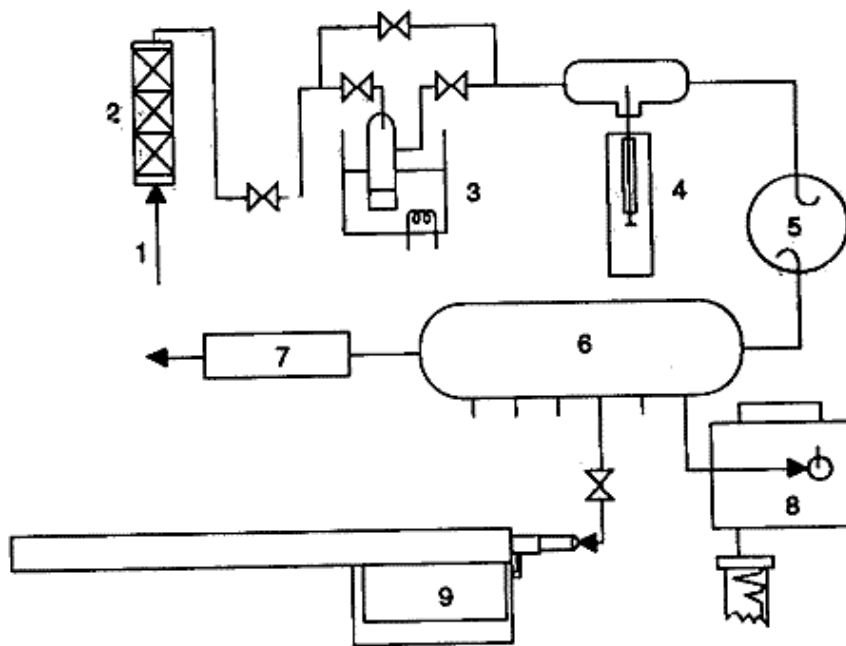
Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

3.2. Aparatos

Los procedimientos de medida deben evaluarse bajo determinadas condiciones de laboratorio, para lo cual, además del material usual de un laboratorio, deberán utilizarse otros instrumentos como los que se indican a continuación:

3.2.1. Sistema de generación de atmósferas de concentración conocida (figura 1)

Figura 1
Sistema para generar la atmósfera controlada



- | | |
|--------------------------|--|
| (1) entrada de aire; | (6) cámara de muestreo; |
| (2) filtro; | (7) sensor de humedad; |
| (3) humidificador; | (8) cromatógrafo de gases; |
| (4) inyector automático; | (9) sistema de captación de aire exhalado. |
| (5) cámara de mezcla; | |

3.2.1.1. Un sistema de generación de concentraciones conocidas de vapor en aire, basado en el uso de una jeringa, un tubo de permeación, una célula de difusión o cualquier técnica equivalente.

3.2.1.2. Instrumentos necesarios para determinar el caudal en el sistema y para controlar y variar tanto la concentración como la humedad de la atmósfera.

3.2.1.3. Una cámara de exposición construida con un material inerte como vidrio o politetrafluoretileno, con los accesorios necesarios para poder recoger muestras de aire que simulen exhalaciones.

3.2.1.4. Equipo necesario para verificar la concentración de la atmósfera durante todo el proceso de validación. A tal efecto, suele utilizarse un cromatógrafo de gases equipado con un detector adecuado y una válvula de inyección de gases.

3.2.2. Equipo necesario para la selección de la fracción final del aire exhalado y captación del xenobiótico

El sistema podría ser el representado en la figura 2, que consta de:

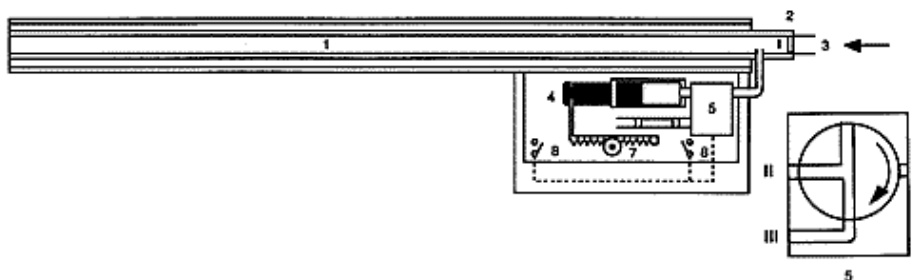
- Un tubo de 1 m de longitud y 26 mm de diámetro, conectado a una boquilla desechable con una válvula que se abre al entrar el aire exhalado a través del sistema y se cierra al finalizar la exhalación. El tubo está calorifugado y recubierto por una camisa aislante de 15 mm de espesor que permite mantener la temperatura a 40 - 45 °C.
- Una válvula de tres vías que está conectada a:

- I. 5 cm de la boquilla situada en el extremo del tubo descrito anteriormente;
- II. jeringa de gases instalada en un sistema de cremallera que permite el llenado y vaciado de la misma;
- III. tubo adsorbente (3.2.3.).

Como se observa en la [figura 2](#), el sistema está basado en la posibilidad de invertir el giro del motor que acciona la jeringa, con lo que ésta realiza alternativamente movimientos de aspiración de aire exhalado e impulsión hacia el tubo adsorbente, mediante el cambio automático de la posición de la válvula de tres vías.

El mecanismo de control de la válvula de tres vías, según se detalla en la [figura 2](#), permite abrir las vías I y II durante la etapa de aspiración de aire exhalado desde el tubo calorifugado, manteniendo la vía III cerrada. En una segunda etapa mantiene abiertas las vías II y III para hacer pasar el aire exhalado aspirado en la etapa anterior a través del tubo adsorbente, manteniendo cerrada la vía I.

Figura 2
Sistema de captación de aire exhalado



- | | |
|------------------------------------|-------------------------------------|
| (1) tubo de aluminio calorifugado; | (5) válvula de tres vías; |
| (2) válvula antiretroceso; | (6) tubo adsorbente; |
| (3) tubo de cartón desechable; | (7) motor; |
| (4) jeringa; | (8) interruptores final de carrera. |

3.2.3. Tubo adsorbente, generalmente de vidrio o de metal, conteniendo un adsorbente o un soporte impregnado con reactivos ([véase 4.2.1.](#)) a través del cual se hace pasar la atmósfera a una velocidad controlada por una bomba de muestreo.

3.2.4. Equipos para el análisis de gases y vapores orgánicos

4. PRUEBAS INTRALABORATORIO

4.1. Selección del método analítico

La selección del método analítico debe basarse en factores tales como:

4.1.1. Selectividad

Capacidad de un método analítico para determinar únicamente los componentes que se pretenden medir.

4.1.2. Sensibilidad

Es la pendiente de la recta de calibración que se obtiene cuando el resultado (o señal) de la medida o una función de la misma se representa frente a la cantidad o concentración del analito.

4.1.3. Correspondencia biunívoca

Cada procedimiento de medida debe ser biunívoco, en el intervalo especificado de medida, esto es: que una y sólo una concentración debe corresponder al valor determinado analíticamente y viceversa.

4.1.4. Linealidad en el intervalo de aplicación

La pendiente de la recta de calibración debe ser constante en todo el intervalo de aplicación del procedimiento de medida.

4.2. Establecimiento de las condiciones de muestreo

Las condiciones referentes al tipo de muestra (sangre total, suero, orina, etc.), momento del día para la recogida de la muestra, necesidad o no de aditivos para su adecuada conservación, condiciones de transporte y tiempo máximo de conservación vendrán determinadas por el tipo de indicador biológico escogido, el método de análisis seleccionado y los resultados obtenidos en las pruebas

experimentales para determinar las condiciones de estabilidad y conservación

4.2.1. Selección del medio de captación (adsorbente)

Deberá estar basado en el conocimiento sobre el comportamiento de compuestos de la misma familia en diferentes tipos de adsorbentes.

4.2.2. Determinación de la eficacia de adsorción

La eficacia de adsorción de un adsorbente se mide por el volumen de ruptura: Para la determinación de dicho volumen se hace pasar, a un caudal constante (véase 4.2.2.1.), el aire procedente de una atmósfera contaminada a una concentración de dos veces el valor límite biológico del compuesto o compuestos de interés y con una humedad relativa del 100%, a través de un tubo adsorbente conectado, directamente o por medio de una válvula de inyección de gases apropiada, a un detector adecuado.

4.2.2.1. Caudal de muestreo

Será el que determinen el diseño del aparato de recogida de muestra y las características del tubo adsorbente.

4.2.2.2. Cálculo del volumen de ruptura

El volumen de ruptura de un contaminante se calculará determinando el tiempo en el cual la concentración en el aire efluente alcance el 5% de la concentración de la atmósfera.

4.2.3. Volumen de muestreo recomendado

El volumen de muestreo recomendado no será superior a dos tercios del volumen de ruptura calculado y estará en consonancia con la sensibilidad del método analítico.



4.3. Selección del procedimiento de desorción

En los sistemas de adsorción/desorción uno de los factores más importantes a tener en cuenta es el procedimiento de desorción que se deberá elegir en función del procedimiento de medida objeto de la validación. Dicho procedimiento de desorción podrá ser:

4.3.1. Desorción con disolvente

En la elección del disolvente se tendrán en cuenta las características del adsorbente y del agente químico, así como la técnica analítica a utilizar y las condiciones en las que se pretende realizar la medida. Pueden tomarse como guía los conocimientos sobre el comportamiento de compuestos de la misma familia con el adsorbente seleccionado, si bien deberán estudiarse en cada caso las condiciones óptimas de desorción incluyendo volumen de desorción, tiempo, temperatura, agitación, etc.

4.3.2. Desorción térmica

Las condiciones de desorción se podrán elegir en base al conocimiento del comportamiento de compuestos pertenecientes a la misma familia química con el adsorbente seleccionado, si bien se deberá estudiar en cada caso las condiciones óptimas de desorción (temperatura y tiempo de desorción, naturaleza y caudal del gas, etc).

4.3.3. Determinación de la eficacia de desorción

La eficacia de desorción se determina con muestras adicionadas con una cantidad de contaminante correspondiente a 0,5; 1 y 2 veces el valor límite biológico. Para esta determinación se necesitan al menos tres muestras para cada nivel de concentración. Para la desorción con disolvente se requiere una recuperación mínima del 75% con una desviación relativa no superior al 7%, para cada nivel de concentración. Para la desorción térmica la recuperación mínima será del 95%.

NOTA: Se puede utilizar un procedimiento abreviado determinando la eficacia de desorción con muestras adicionadas con cantidades correspondientes a 0,5 y 2 veces el valor límite. En este caso el número de muestras será de 6, y no será necesario calcular la eficacia de desorción para concentraciones intermedias si la diferencia entre los dos niveles determinados es inferior al 7%.



4.4. Influencia de la concentración sobre el procedimiento de medida

Se generan atmósferas a dos niveles de concentración diferentes: 0,5 y 2 veces el valor límite biológico, con una humedad relativa del 100%.

Se recogen 6 muestras por cada una de las citadas concentraciones, simulando en cada una de ellas la toma de aire proveniente de una exhalación. Las muestras se analizan inmediatamente después de su recogida siguiendo el procedimiento de medida en estudio.

Concentración	Humedad relativa 100%
0,5 VLB	6
2 VLB	6

Para cada nivel de concentración habrán de cumplirse los requisitos de sesgo y precisión exigidos en el [apartado 5](#).

En caso de no cumplir dichos requisitos, se deberán ensayar otros volúmenes de muestra hasta delimitar las condiciones de aplicación del procedimiento de medida.

4.5. Estudio de la conservación de las muestras

Para determinar el tiempo que las muestras pueden estar almacenadas antes de su análisis, se generan atmósferas a concentraciones de 0,5 y 2 veces el valor límite biológico, y con una humedad relativa del 100%.

Se recogerán un total de 24 muestras, doce por cada una de las citadas concentraciones, que se analizarán siguiendo el esquema propuesto en la tabla siguiente:

Tiempo del Análisis	Concentración	
	0,5 VLB	2 VLB
Inmediato	3	3
14 días (T ambiente)	3	3

La estabilidad durante el almacenamiento de las muestras es un factor crítico en la evaluación del método. Se considera que no existen problemas de almacenamiento si los resultados obtenidos en los análisis efectuados a los 14 días no difieren de los obtenidos con las muestras analizadas inmediatamente, en más de un 10%.

En función de los resultados obtenidos se establecerán las condiciones de transporte y almacenamiento de las muestras. En caso de que puedan producirse problemas durante el almacenamiento y/o pérdidas en el transporte se recomienda introducir los cambios necesarios para solucionar estos problemas.

NOTA: Este ensayo puede desarrollarse conjuntamente con el descrito en [4.4](#), recogiendo 12 muestras por cada una de las concentraciones estudiadas (0,5 y 2 veces el VLB) al 100% de humedad relativa, efectuando el análisis inmediato con la mitad de ellas y reservando las restantes para comprobar la concentración tras 14 días de almacenamiento a temperatura ambiente.

5. REQUISITOS INTRALABORATORIO

El procedimiento de medida debe cubrir el intervalo de concentración de 0,5 a 2 veces el valor límite biológico:

- La eficacia de desorción para cada concentración será:
 - > 75% (desorción con disolvente)
 - > 95% (desorción térmica)
- El tiempo de almacenamiento admitido será el tiempo máximo ensayado en el que la diferencia con los resultados de las muestras analizadas inmediatamente sea < 10%.
- La desviación típica relativa para cada nivel de concentración será < 7%.
- El sesgo relativo expresado como $100 \times | \bar{X} - x_{ref} | / x_{ref}$ para cada concentración será < 10% siendo x_{ref} el valor verdadero o aceptado y \bar{X} el valor medio de los resultados obtenidos para cada concentración en [4.4](#) y [4.5](#)

6. PRUEBAS INTERLABORATORIOS

Los métodos que cumplan los requisitos indicados en el [apartado 5](#), pueden ser sometidos a una prueba interlaboratorios con el fin de determinar su repetibilidad y reproducibilidad.

Antes del desarrollo de la prueba, los laboratorios participantes en la misma deberán disponer de la descripción detallada del método

de toma de muestra y análisis y seguir las instrucciones del mismo a la hora de realizar los análisis.

El esquema mínimo a seguir para el desarrollo de una prueba interlaboratorios será:

- número mínimo de laboratorios participantes: 8
- número mínimo de niveles de concentración: 2
- número de muestras por nivel de concentración: $2 < n < 6$,

El análisis estadístico de los resultados y el cálculo de la repetibilidad y reproducibilidad se realizará de acuerdo con la norma ISO 5725.

7. INFORME DEL PROCESO DE VALIDACIÓN

El informe deberá incluir al menos la siguiente información:

- a. Descripción completa de la muestra.
- b. Descripción completa del equipo y condiciones de muestreo.
- c. Descripción completa del método analítico.
- d. Valores calculados para la eficacia de desorción.
- e. Concentraciones ensayadas.
- f. Valores obtenidos en los ensayos realizados.
- g. Valores calculados para la precisión, sesgo, r y R para cada concentración.
- h. Justificación técnica de la omisión de algún ensayo.

8. BIBLIOGRAFÍA

Directiva 98/24/CE del Consejo, de 7-4-1998, **relativa a la protección de la salud y la seguridad de los trabajadores contra los riesgos relacionados con los agentes químicos durante el trabajo.**

UNE EN 1076. **Atmósferas en el lugar de trabajo. Tubos adsorbentes para la determinación de gases y vapores. Requisitos y métodos de ensayo.**

ISO 5725 : 1994 (E). **Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results.**

Para cualquier observación o sugerencia en relación con este Método puede dirigirse al

Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo

Centro Nacional de Verificación de Maquinaria

Camino de la Dinamita, s/n Monte Basatxu-Cruces - 48903 BARACALDO (VIZCAYA)

Tfn. 944 990 211 - 944 990 543 Fax 944 990 678

Correo electrónico.- cnvminsht@mtas.es