

63:91

CONTROL BIOLÓGICO  
DE DISOLVENTES  
MEDIANTE  
AIRE EXHALADO

DOCUMENTOS  
TECNICOS



INSTITUTO NACIONAL  
DE SEGURIDAD E HIGIENE  
EN EL TRABAJO

# **CONTROL BIOLOGICO DE DISOLVENTES MEDIANTE AIRE EXHALADO**

**63: 91**

Autor:

**J. Francisco Periago Jiménez  
Doctor en Ciencias Químicas  
G.T.P. MURCIA**

**Julio 1991**

I.S.B.N.: 84-7425-330-6

Dep. Legal: B. 34066.91

N.I.P.O.: 211-91-007-2

Edita: Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo  
Torrelaguna, 73 - 28027 MADRID

Imprime: Servicio de Ediciones y Publicaciones I.N.S.H.T.- MADRID.

F.D. 2139



## INDICE

I. INTRODUCCION .....	5
II. BASES FISIOLÓGICAS DEL ANALISIS RESPIRATORIO .....	9
III. MODELOS MATEMÁTICOS DE ELIMINACION RESPIRATORIA .....	17
IV. NORMALIZACION DE MUESTRAS DE AIRE EXHALADO .....	27
V. EXPERIMENTACION .....	33
VI. SISTEMAS DE CAPTACION .....	45
Aire exhalado mezclado .....	45
Aire exhalado final .....	49
BIBLIOGRAFIA .....	63





## I. ANTECEDENTES

La historia del análisis de compuestos químicos en el tracto respiratorio se remonta a 1.874, cuando Anstie estudió la eliminación del alcohol etílico por vía respiratoria. A medida que se han desarrollado técnicas analíticas más potentes, ha sido posible la determinación de más compuestos, lo que ha permitido caracterizar hasta 100 especies químicas en el aire respiratorio humano (1).

Aunque en la mayoría de los casos no se conoce con precisión la ruta metabólica por medio de la cual están presentes en el aire exhalado estos compuestos, se han observado correlaciones entre el incremento de la concentración de ciertos compuestos en aire exhalado y alteraciones funcionales tales como diabetes, cirrosis, enfermedades renales, modificaciones de la ovulación, etc.

Este hecho introduce la posibilidad de utilizar el análisis del aire exhalado respiratorio, para el diagnóstico clínico (2).

El uso más extendido del análisis respiratorio con fines clínicos, es la determinación de acetona en relación con la diabetes, ya que, junto con el análisis de glucosa, permite establecer una categorización más amplia, contribuyendo de esta forma a establecer en cada caso el tratamiento más adecuado (3,4,5).

En pacientes urémicos, se han encontrado concentraciones elevadas de dimetil y trietilamina en aire respiratorio, que descienden a niveles normales después de diálisis renal (6). También se ha detectado un incremento significativo de la concentración en aire exhalado

de sulfuro de dimetilo, mercaptanos y ácidos grasos en sujetos con cirrosis, cuando se comparan con sujetos normales (2).

La presencia de metano en el aire respiratorio se puede relacionar con el cáncer de intestino (7). La de etano y pentano, con un incremento en la peroxidación de los lípidos inducida por compuestos químicos (8,9). La presencia de piridina y metilpiridina en aire exhalado, como compuestos volátiles de la saliva, se relacionan con periodontitis severas o moderadas (10), Gordon y col. (11) estudian el aire exhalado en 12 pacientes de cáncer de pulmón, comparándolo con el procedente de un grupo control de 17 personas, encontrando compuestos volátiles con suficiente poder diagnóstico como para diferenciar ambos grupos.

Algunas drogas y sus metabolitos, pueden ser excretadas por vía pulmonar como el Disulfirán, que tras su metabolización es eliminada en forma de sulfuro de carbono por vía respiratoria o el delta-9-tetrahidrocannabinol (THC) que ha sido detectado en el aire respiratorio, a pesar de la rapidez con la que disminuye su presencia en este medio (2).

También cabe destacar la presencia de anestésicos en pacientes que han sufrido intervenciones quirúrgicas, incluso en periodos de tiempo muy alejados en la administración de los mismos. Así, Gorbett y Ball encuentran que el Halotano es detectado en el aire respiratorio de pacientes a los 20 días de haber sido anestesiados (12) y Metoxifluorano en el aire respiratorio de pacientes a los 18 días de ser anestesiados (13).

El desarrollo de programas de Higiene Industrial que complementan las valoraciones ambientales de los contaminantes químicos con el control biológico de los mismos, ha despertado un enorme interés en la búsqueda de indicadores biológicos de exposiciones laborales, que también puedan aplicarse a poblaciones extralaborales, expuestas directa o indirectamente a contaminantes químicos.

Las determinaciones biológicas de estos compuestos o sus metabolitos comenzaron a realizarse mediante su análisis en sangre y orina. Sin embargo, es bien conocido que muchos compuestos químicos de uso industrial y en particular los disolventes, una vez que son inhalados y distribuidos por el sistema vascular del cuerpo

humano son posteriormente excretados en mayor o menor grado en el aire exhalado. En algunos casos, también se puede eliminar por esta vía metabolitos de la especie química original o compuestos químicos inmetabolizados que han sido absorbidos por vía dérmica.

La posibilidad de eliminación por esta vía de compuestos químicos absorbidos por vía respiratoria o dérmica ha permitido especular con la expectativa de utilizar este espécimen para el control biológico de exposición a los mismos.

Entre las ventajas que puede ofrecer este tipo de determinación se pueden destacar los siguientes (14):

Usualmente no vienen afectadas por factores de tipo metabólico, sino que en la mayoría de los casos los factores que determinan el fenómeno son de tipo físico o físico-químico, que permanecen más invariables entre individuos.

El indicador químico aparece rápidamente en el aire exhalado y no es necesario esperar horas o semanas para que éste aparezca.

El análisis se puede realizar mediante cromatografía de gases o técnicas afines, lo que permite cuantificar pequeñas cantidades, analizar simultáneamente diversas especies químicas y eliminar, prácticamente, la posibilidad de interferencias, por lo que es una determinación muy específica. También permite utilizar la metodología analítica de compuestos químicos en aire, generalmente muy bien conocida en Toxicología Laboral.

Se pueden tomar varias muestras consecutivas con rapidez.

Se puede observar al sujeto mientras se toma la muestra, comprobando si se siguen las instrucciones específicas.

Es muy poco probable la existencia en el aire exhalado de progenitores ajenos al ambiente laboral para el análisis a determinar, lo que no siempre se puede asegurar en las determinaciones indirectas de metabolitos.

Se utiliza una técnica de muestreo no invasiva y por tanto, bien aceptada por la población.

Entre los factores que pueden influir en la concentración de compuestos químicos en el aire exhalado se pueden citar:

El ejercicio físico, que puede modificar la velocidad de entrada y eliminación de xenobióticos en el organismo (15,16).

Las interferencias debidas a compuestos químicos no relacionados con el ambiente laboral, por ejemplo la acetona procedente de diabetes severas no tratadas, puede ser confundida con la procedente de exposiciones laborales. El monóxido de carbono en el caso de fumadores invalida la posibilidad de utilizar este indicador biológico de la exposición al diclorometano. Según el compuesto químico que estamos investigando habrá que tener precaución con posibles interferencias procedentes del azúcar, tabaco (17), pastas dentífricas, desinfectantes, etc.

También se han descrito diferencias significativas entre la velocidad de absorción de xenobióticos dependientes del sexo (18); naturalmente ello afecta al tiempo de saturación y velocidad de eliminación. Un factor que puede contribuir a la velocidad de saturación del compartimento formado por la sangre y fluidos extracelulares es su volumen. Este es de 75 ml/kg de peso para los hombres, mientras que para las mujeres es de 67 ml/Kg de peso. Teniendo en cuenta que se pueden dar diferencias de peso entre sexos de hasta un 100% también pueden ser muy diferentes las cantidades de xenobiótico en este compartimento tras una exposición similar.

La obesidad, sobre todo en el caso de disolventes orgánicos, también puede influir en la concentración en aire exhalado, ya que su acumulación en tejidos grasos condiciona la eliminación respiratoria de los mismos.

## II. BASES FISIOLÓGICAS DEL ANÁLISIS RESPIRATORIO

La base fundamental es el equilibrio que se produce entre el aire alveolar y sangre pulmonar. La sangre tarda aproximadamente 0,75 segundos en pasar a través de los capilares alveolares y aunque los gases o vapores deben difundir a través de la membrana, tejido conectivo y endotelio capilar, la difusión pulmonar es muy rápida, completándose en 0,3 segundos. Ello es debido a que el área de la superficie alveolar del pulmón humano oscila entre 50 y 100 m<sup>2</sup> y tiene un espesor menor de 0,5 micras en muchos sitios. Ambas circunstancias favorecen la difusión, ya que según la ley de Fick, el volumen de gas unidad de tiempo que se moviliza a través de una membrana de tejido (F) es directamente proporcional a la superficie de dicha membrana (A) y a la diferencia de presiones parciales entre ambos lados (P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>), pero inversamente proporcional al espesor de la misma (L).

$$F = \frac{A}{L} D (P_1 - P_2)$$

Esta ley está formulada en términos de gradiente de concentraciones, pero en este contexto es preferible usar presiones parciales, ya que ambas están relacionadas por la Ley de Henry. El coeficiente de difusión D, dependerá de la estructura de la membrana y de la especie de gas, siendo directamente proporcional a la solubilidad del gas en

la membrana e inversamente proporcional a la raíz cuadrada de su peso molecular.

Una vez que los vapores de disolventes llegan a los pulmones, el equilibrio entre aire alveolar y sangre puede considerarse instantáneo. De tal forma que la relación entre las concentraciones del mismo en sangre pulmonar y aire alveolar serán bastante próximos a los coeficientes de partición sangre-aire estudiados "in vitro". Así, en todo momento hay un equilibrio entre las presiones parciales de disolvente en aire alveolar y la sangre arterial que abandona los pulmones para la perfusión tisular. La presión parcial del disolvente en aire exhalado puede ser una medida válida de la presión parcial en la sangre arterial.

Durante la eliminación, es decir, cuando la presión parcial del disolvente inspirado es nula, la presión parcial en los tejidos es la misma que en la sangre venosa local y su valor es superior a la existente en la sangre arterial. Por ello, el mejor índice del nivel del disolvente en los tejidos es la presión parcial en la sangre venosa local, es decir, en la vena yugular, en el caso de disolventes con acción sobre el sistema nervioso central o en la sangre venosa hepática, en el caso de disolventes con acción hepatotóxica. Sin embargo, las estimaciones de los niveles de disolvente en los tejidos normalmente están basados en el muestreo de sangre venosa tomada del antebrazo y este análisis no tiene que reflejar necesariamente la presión parcial en sangre venosa local. Y esto es cierto sobre todo, en el caso de disolvente con un coeficiente de partición líquido-sangre elevado, puesto que, en este caso, la diferenciación entre la presión parcial en tejidos ricos en grasa o tejido muscular puede ser bastante considerable.

Así pues, el muestreo alveolar puede dar una estimación válida de la presión parcial en la sangre arterial y, bajo ciertas circunstancias, de la sangre venosa mezclada, pero estas estimaciones no lo son nunca de la presión parcial en un tejido particular.

Al finalizar la exposición industrial, la concentración en aire inspirado del disolvente es nula y su presión parcial alveolar dependerá del flujo cardiaco, la ventilación pulmonar y la solubilidad. La relación existente entre la ventilación alveolar y la perfusión o flujo sanguíneo, tendrá mucha importancia para determinar las velocidades a las que es conducido y eliminado el disolvente del pulmón.

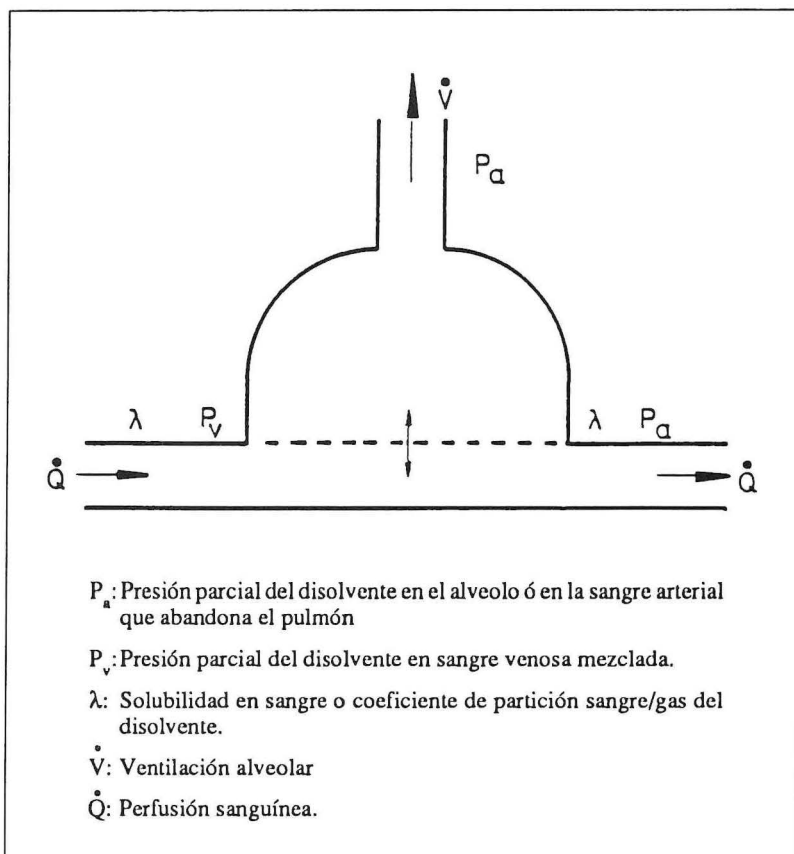


Fig. 1. Esquema de un alveolo pulmonar

En la fig. 1 se representa un esquema del alveolo pulmonar. Si consideramos el periodo de post-exposición, cuando la concentración del disolvente en el aire inhalado es nula, se puede establecer un balance de materia sencillo en la región alveolar, una vez alcanzado el equilibrio, en los siguientes términos:

$$P_v \cdot Q \cdot \lambda = P_a \cdot \dot{V} + P_a \cdot \dot{Q} \cdot \lambda$$



Simplificando y reduciendo, se obtiene la siguiente expresión:

$$\frac{P_a}{P_v} = \frac{\lambda}{\dot{V}/\dot{Q} + \lambda}$$

Expresión conocida como fórmula de Farhi (19) donde  $P_a$  es la presión parcial del disolvente en aire alveolar que siempre está en equilibrio con la de la sangre arterial que abandona el pulmón.  $P_v$  es la presión parcial del disolvente en sangre venosa mezclada y  $\lambda$  es el coeficiente de solubilidad o coeficiente de reparto sangre-gas, definido como el número de mililitros de gas o vapor (medidos a la temperatura del cuerpo) que se disolverán en 1 mililitro de sangre a la presión parcial de 1 atmósfera.

Los valores estándar de  $\dot{V}$  y  $\dot{Q}$  en personas normales aproximadamente pueden oscilar entre 5,25 l/m y 5 l/m, respectivamente (20) lo que daría un valor de  $\dot{V}/\dot{Q}$  de 1,05. Este valor total puede tener variaciones interindividuales que aproximadamente oscilen entre 1 y 0,7 (19). Asimismo este valor es diferente entre las distintas regiones pulmonares, ya que no todos los alveolos son ventilados y perfundidos de forma similar, y el valor de  $\dot{V}/\dot{Q}$  puede variar desde 0,63, en la base del pulmón, hasta 3,3 en el vértice (20).

En general la influencia en el cociente  $P_a/P_v$ , debida a la variación interindividual de  $\dot{V}/\dot{Q}$ , carece prácticamente de significado dentro del rango normal antes mencionado. Sin embargo, la relación ventilación-perfusión, puede verse influenciada por el ejercicio físico. Esta relación es mas homogénea durante un ligero ejercicio que en reposo y por tanto, las muestras de aire exhalado final tomadas durante la realización de un ejercicio moderado pueden reflejar mejor la concentración alveolar.

A medida que los disolventes tengan mayor coeficiente de partición, la influencia de la relación ventilación-perfusión en el cociente  $P_a/P_v$  es menos significativa, de tal forma que para valores de  $\lambda$  superiores a 5, en condiciones de equilibrio, este cociente alcanza valores que oscilan entre 0,83 y 0,87 para el máximo intervalo de variaciones  $\dot{V}/\dot{Q}$  fijado anteriormente. Kelman (21), desarrolla un modelo computerizado, basado en la aplicación de la fórmula de

Farhi, en el cual estudia la relación entre las presiones parciales en el aire alveolar y sangre venosa mezclada para un amplio intervalo de coeficientes de partición. El efecto de la relación ventilación-perfusión se calcula aplicando esta fórmula a cada una de las nueve secciones del modelo de pulmón de West (22). En la Fig. 2 se representa el efecto calculado de un corto periodo de hiperventilación (tres respiraciones al doble del volumen corriente) seguidas por un periodo de apnea, en el que se mantiene la respiración interrumpida.

Manteniendo la respiración durante 8 ó 10 segundos después de realizar la hiperventilación, se pueden alcanzar valores de  $P_a/P_v$  superiores a 0,95 para un coeficiente de reparto  $\lambda=5$ . El ejemplo descrito en la Fig. 2 está referido a un individuo en reposo y presenta el caso más desfavorable, puesto que en la mayoría de las circunstan-

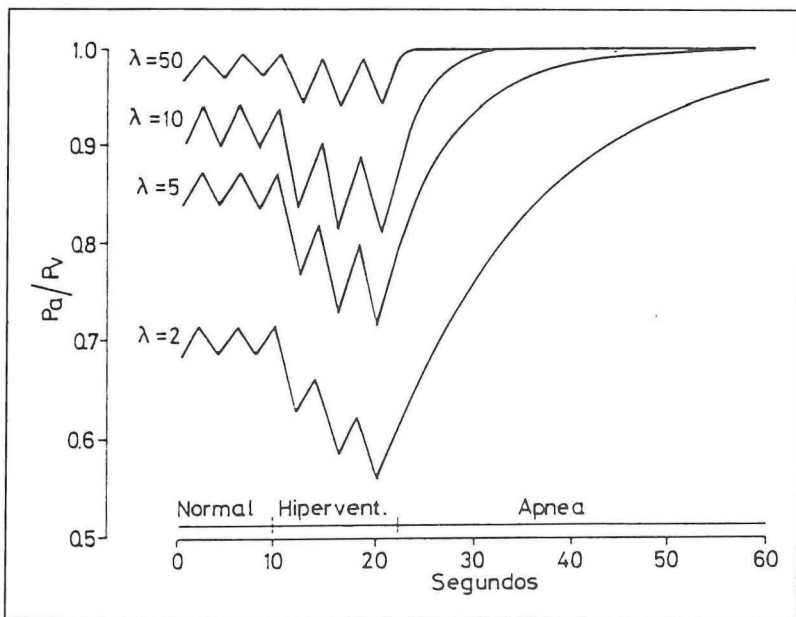


Fig. 2. Efecto de hiperventilación/apnea en la relación de las presiones parciales alveolar ( $P_a$ ) y venosa ( $P_v$ ) de un disolvente, en función del coeficiente de reparto. (Tomado de Kelman, 1982).

cias industriales este equilibrio se puede alcanzar más rápidamente ya que, si bién un ejercicio moderado incrementa tanto la ventilación pulmonar como el flujo cardiaco, éste último podría incrementar la velocidad de equilibrio de la sangre venosa con el aire alveolar durante el periodo en que se mantiene la respiración interrumpida.

En la Fig. 3, se muestra la respuesta de la presión parcial del disolvente en aire alveolar durante un periodo en que se mantiene la respiración interrumpida, al final de un periodo de ventilación normal. Como cabe esperar, el equilibrio entre las presiones parciales alveolar y venosa del disolvente se alcanzará más rápidamente en función del coeficiente de reparto sangre-gas del mismo. Evidentemente cuanto menor sea el volumen pulmonar retenido durante el periodo de apnea, este equilibrio se alcanzará más rápidamente aunque esta operación es difícil de conseguir en individuos no entrenados.

Sin embargo con una exhalación continuada, al final de un periodo normal de ventilación como se indica en la línea de puntos de la Fig. 3, los disolventes con un coeficiente de reparto superior a 5, alcanzan

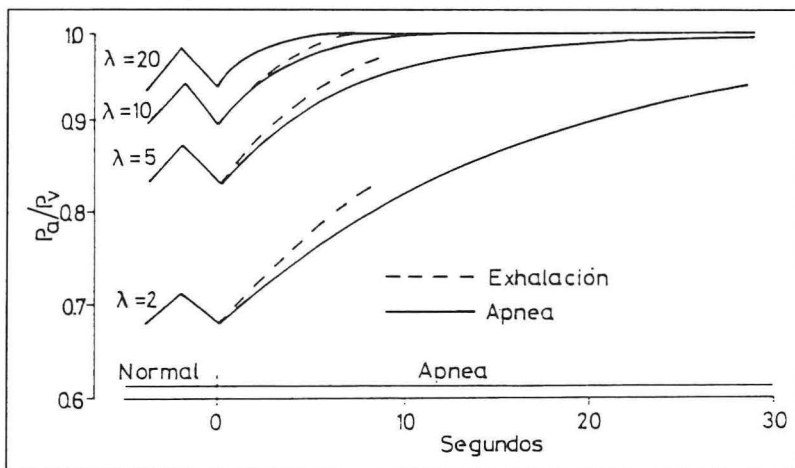


Fig. 3. Relación entre las presiones parciales alveolar ( $P_a$ ) y venosa ( $P_v$ ) durante un periodo de apnea o en una exhalación forzada, en función del coeficiente de reparto del disolvente. (Tomado de Kelman, 1982).

valores de presión parcial en aire alveolar del orden del 95% de la presión parcial en sangre venosa y para los que tengan coeficientes de reparto superiores a 10, las presiones parciales son iguales.

La línea de puntos se ha interrumpido al cabo de 8 segundos que es el tiempo de duración de una exhalación prolongada. Esta línea representa la técnica de Haldane-Priestley, es decir exhalando a través de un tubo y tomando una muestra al final de la misma. Con este procedimiento se pueden tomar muestras de aire exhalado que contengan una presión parcial de disolvente equivalente al 95% de la presión parcial del mismo en sangre venosa, para disolventes con solubilidad en sangre superiores a 5.

En el caso de disolventes con menos solubilidad, la diferencia entre las dos presiones parciales solo se pueden superar manteniendo la respiración durante un periodo de tiempo antes de obtener la muestra.

También se debe tener en cuenta la posibilidad de que se produzcan variaciones en la concentración de un disolvente en el aire exhalado debidas a procesos de absorción-desorción en las vías respiratorias y el pulmón. Estos tejidos constituyen un sistema dinámico y están sujetos a variaciones ambientales con fluctuaciones de temperatura y presión que pueden producir alteraciones en la concentración del disolvente en aire, debido a procesos de adsorción, de difícil predicción. Así, se ha sugerido que la acetona que es muy soluble en agua, se puede disolver en la saliva y en el epitelio del tracto respiratorio superior y cuando el aire alveolar pasa sobre este durante la expiración, se puede desorber parcialmente y por tanto la concentración en el aire exhalado podría ser diferente a la del aire alveolar.

También la composición de la sangre puede afectar al coeficiente de reparto sangre-aire para algunos compuestos, ya que estos coeficientes pueden verse afectados por el hematocrito y contenido en líquidos y proteínas. Para algunos anestésicos, se ha observado que un incremento del hematocrito produce en unos casos un aumento lineal del coeficiente de reparto como sucede con el Enflurane, mientras que en otros casos se produce el efecto contrario como sucede con el Isoflurano(19).



### III. MODELOS MATEMATICOS DE ELIMINACION RESPIRATORIA

Para el estudio toxicocinético de los disolventes en el organismo humano son de gran utilidad los modelos matemáticos que permiten aproximarnos a una mejor comprensión de las cinéticas de adsorción, distribución y eliminación de los mismos por el hombre.

La mayoría de los modelos son de tipo, multicompartmental y los organos o agrupaciones de tejidos están caracterizados por el flujo sanguíneo, volumen y coeficientes de partición.

Guberán y Fernández (23) desarrollaron un modelo para predecir la entrada y distribución de tetracloroetileno en el cuerpo humano y su eliminación por el aire alveolar. Este modelo es particularmente interesante, ya que se trata de un compuesto químico cuyo metabolismo es prácticamente nulo y se elimina en su totalidad por esta vía. Al ser un compuesto muy soluble en grasa, se acumula en el tejido adiposo y tiene una vida media biológica superior a las 70 horas.

Este modelo se basa en que los intercambios de disolvente, para cada ciclo respiratorio, tienen lugar hasta que se alcanza el estado de equilibrio entre:

- I. el compartimento 1 (gas alveolar) y el compartimento 2 (sangre pulmonar)
- II. el compartimento 1' (sangre periférica) y el compartimento 2' (tejidos, divididos en cuatro grupos).

El equilibrio I dependerá del coeficiente de partición sangre/gas del disolvente y el equilibrio II del coeficiente de partición tejido/sangre, para cada grupo de tejidos.

Los tejidos fueron agrupados en cuatro compartimentos, tejidos ricos en vasos sanguíneos (VRG) (correspondiente a cerebro, corazón, hígado, riñones y glándulas endocrinas), el tejido muscular (MG) (músculos y piel); el tejido graso (FG) (tejido adiposo y medular) y el tejido pobre en vasos sanguíneos, (VPG) compuesto por el tejido conectivo.

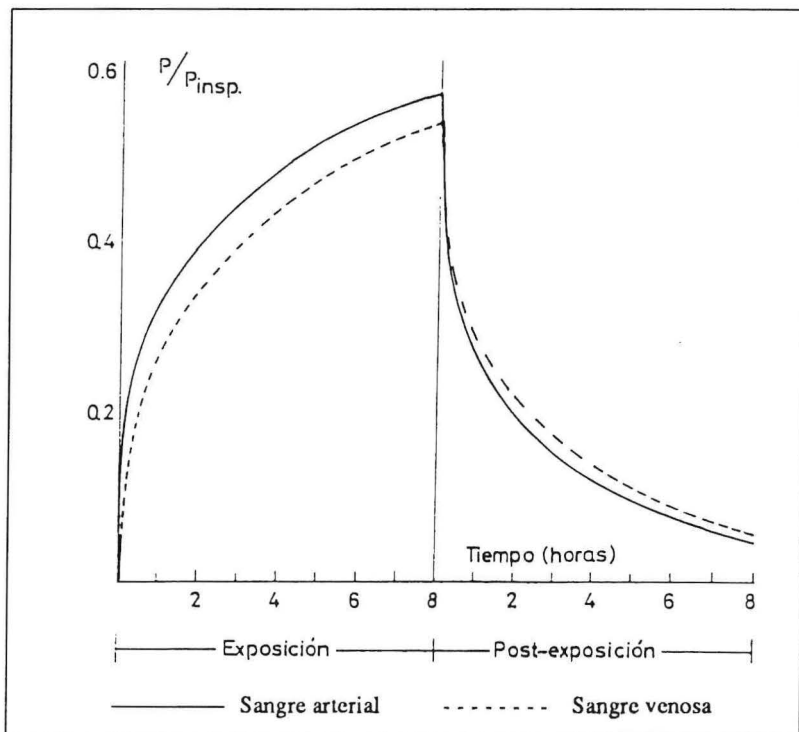


Figura 4 (a). Predicción de las presiones parciales de Tetracloroetileno en sangre arterial y venosa durante y después de 8 horas de exposición. Las presiones en sangre ( $P$ ), se expresan en relación con la presión parcial constante inspirada durante la exposición. (Tomada de Guberman y Fernández, 1974)

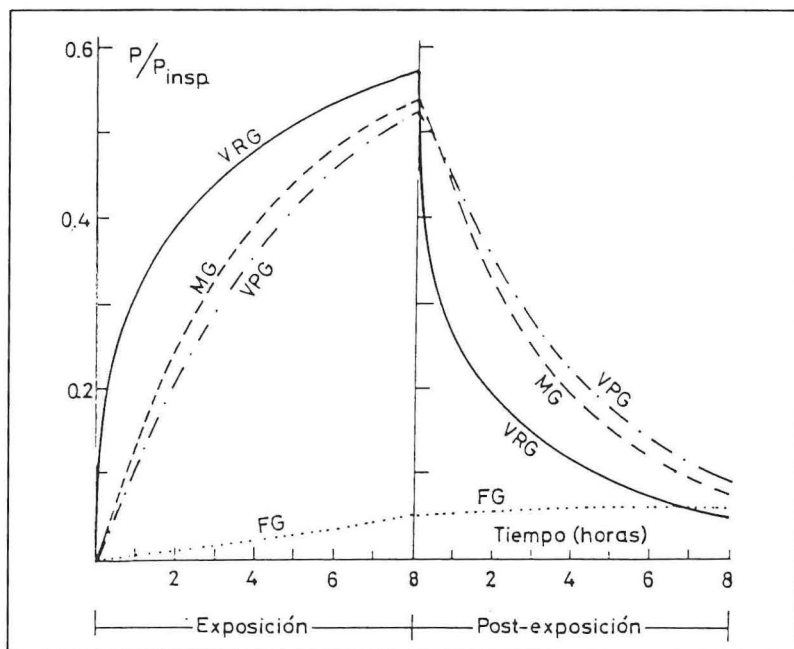


Figura 4 (b). Predicción de las presiones parciales de Tetracloroetileno en los siguientes grupos de tejidos VRG (tejidos ricos en vasos sanguíneos); MG (tejido muscular); VPG (tejidos pobres en vasos sanguíneos); FG (tejido graso). Las presiones parciales se expresan en relación con la presión parcial constante inspirada ( $P_{insp}$ ). (Tomado de Guberan y Fernández 1974).

En función del volumen, perfusión y coeficientes de partición para cada grupo de tejidos y de parámetros fisiológicos tales como, edad, peso, altura, área superficial, flujo y volumen sanguíneo, frecuencia respiratoria, capacidad funcional residual y ventilación alveolar, se construye el modelo matemático que nos permite predecir los perfiles de la concentración de tetracloroetileno en aire alveolar, sangre arterial y venosa, así como en los distintos grupos de tejido como se indica en la Fig. 4 (a y b).

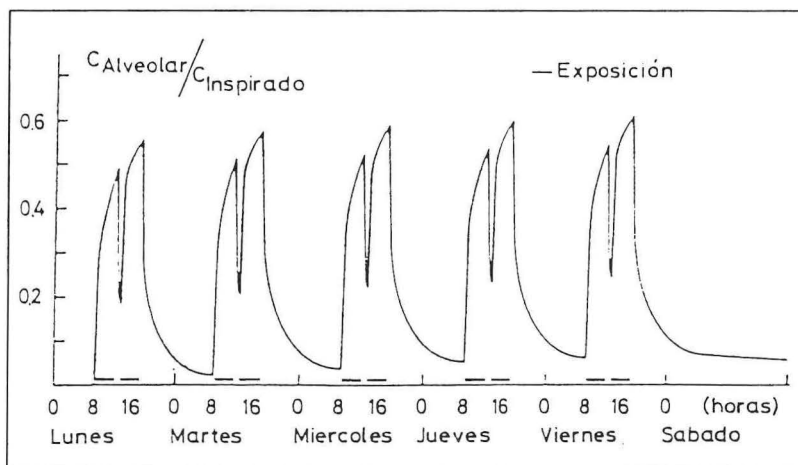
Se observa un crecimiento constante de la concentración en tejido graso que, continúa aumentando aún después de finalizada la exposición, ya que parte del contaminante eliminado de los restantes



compartimentos, pueden incrementar el contenido en tejido graso. Durante el periodo de exposición la concentración en sangre arterial y aire alveolar es superior a la concentración en sangre venosa, mientras que en la post-exposición sucede lo contrario, aunque son más próximos los niveles en todo momento.

En la Fig. 5 se exponen las concentraciones de aire alveolar para dos exposiciones diarias de 4 horas separadas por un descanso de 1 hora, durante 1 semana. Se observa un incremento a lo largo de la semana en la concentración de aire exhalado debida a la acumulación del compuesto en tejido adiposo, ya que la eliminación es prácticamente total hacia las 20 horas de iniciar la exposición, después de este periodo de tiempo, la eliminación del tejido graso es una función exponencial del tiempo y el modelo predice una vida media de 71,5 horas.

En la Fig. 6 y 7 se presentan las predicciones respecto a la influencia en la concentración alveolar del ejercicio físico y la obesidad. En el primer caso se compara el efecto que supone elevar la ventilación al doble durante la realización de un ejercicio físico.



*Fig. 5. Predicción de los valores de concentración alveolar de Tetracloroetileno para una exposición "industrial" de una semana. Los tiempos de exposición son de 8-12 h y de 13-17. (Tomado de Guberan y Fernández, 1974).*

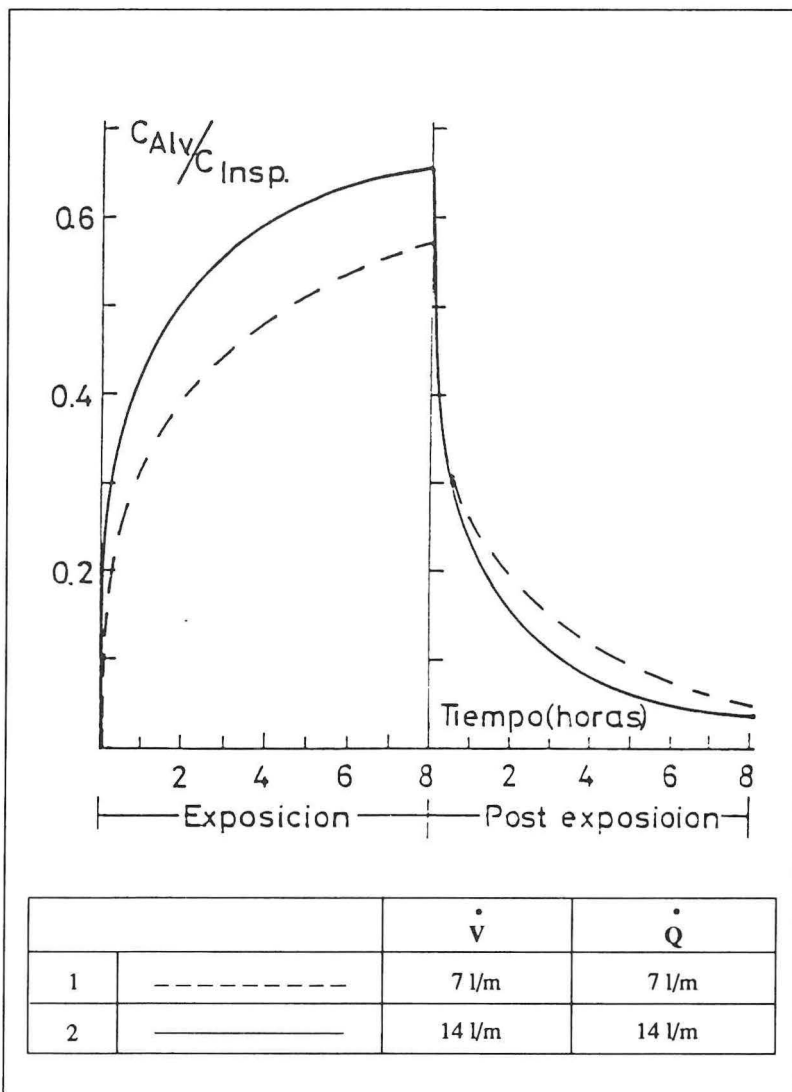


Fig. 6. Predicción de la concentración alveolar de tetracloroetileno para un sujeto normal (1) y cuando duplica su ventilación alveolar durante un esfuerzo físico. (Tomado de Guberman y Fernández 1.974).

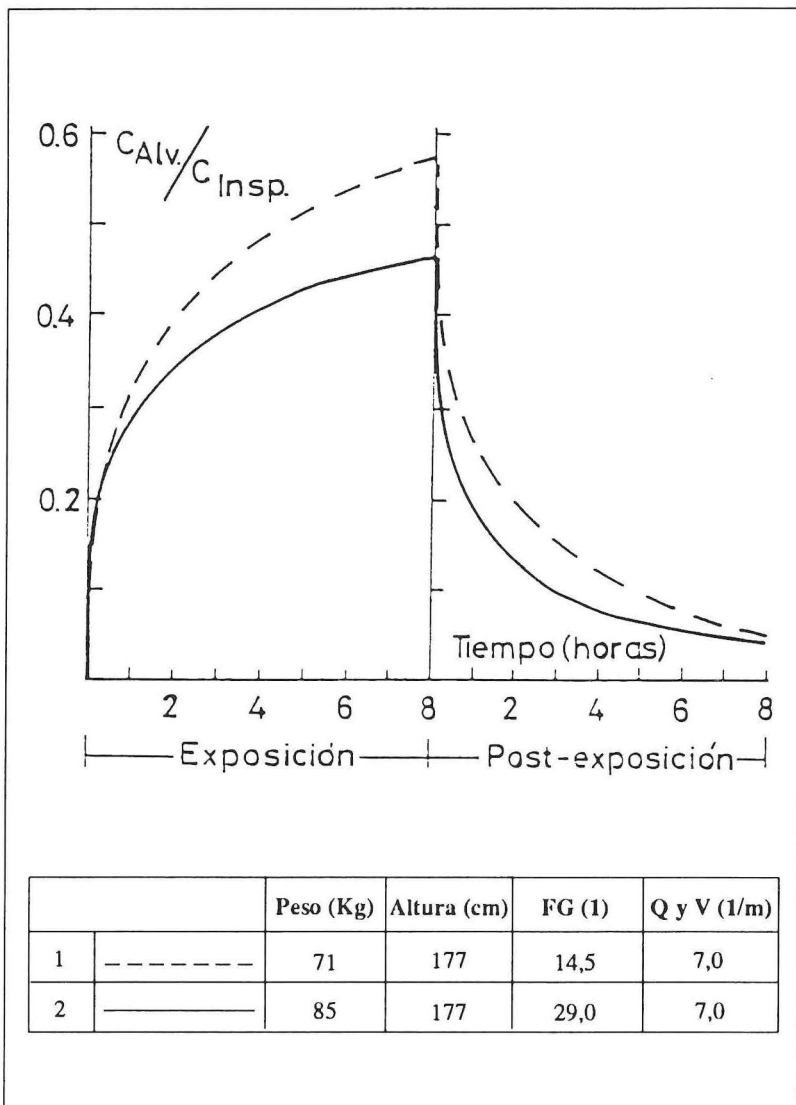


Fig. 7. Predicción de la concentración alveolar de tetracloroetileno para un sujeto normal (1) y para un sujeto obeso (2). (Tomado de Guberan y Fernández, 1974).

La influencia de la obesidad se estudia comparando el individuo standard con otro que tenga el doble volumen de tejido graso.

Este modelo ha sido comprobado experimentalmente con un resultado satisfactorio (24).

También se han producido modificaciones sobre el mismo, en las cuales se tenía en cuenta la metabolización, como el desarrollado para el Tricloroetileno (25) o 1,1,1-Tricloroetano (26).

Fiserova-Bergerova y cols.(27) desarrollaron otro modelo matemático de simulación y predicción de entrada distribución y exhalación de disolventes orgánicos que además permite tener en cuenta los efectos del metabolismo.

La cinética de los compuestos inhalados está determinada por la velocidad de transporte de los compuestos desde los pulmones a los tejidos y por la capacidad de retención de cada tejido hacia estos compuestos. Ambos factores varían con los diferentes tejidos y dependerán del coeficiente de partición tejido/sangre así como la perfusión sanguínea y el volumen de cada compartimento fisiológico. Este modelo agrupa los distintos tejidos del cuerpo en 3 grupos: tejidos ricos en vasos sanguíneos (VRG), tejidos con baja perfusión, tales como músculos y piel (MG) y tejido graso, débilmente perfundido y con coeficiente de partición elevado (FG).

En la Fig.8 se refleja la predicción de la influencia que tiene la metabolización del Benceno, según este modelo. El nivel de este disolvente en el compartimento VRG es mucho menor en el caso de que haya metabolización puesto que el benceno que llegue a este compartimento está inmediatamente sujeto al metabolismo.

Algo similar ocurre en el compartimento MG puesto que el metabolismo reduce la posibilidad de saturación de este compartimento desde un 80% hasta un 52%.

La entrada al compartimento FG es muy lenta y está determinada por la baja perfusión del tejido graso. Este compartimento nunca se satura durante la exposición industrial y cuando esta finaliza se produce una redistribución eliminándose benceno de los compartimentos VRG y MG, mientras que el FG continúa recibiendo benceno durante un periodo de tiempo suficiente para alcanzar el equilibrio. Cuando no hay metabolismo este periodo de redistribución puede ser mucho mayor.

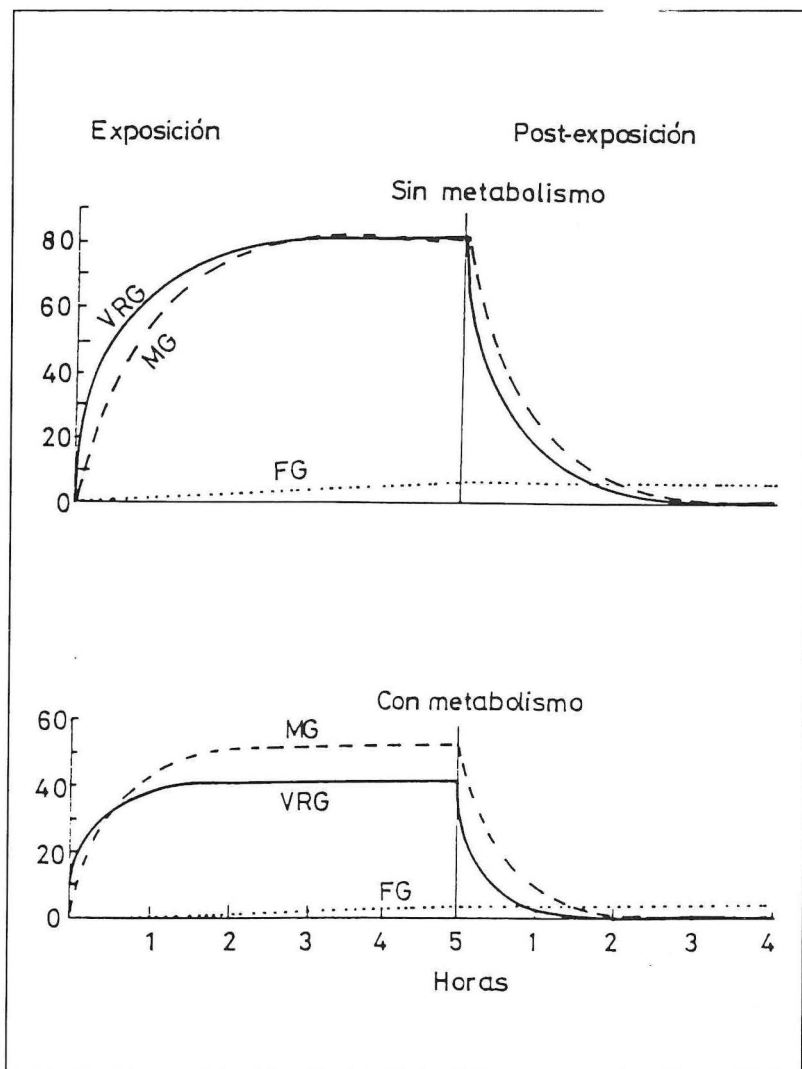


Fig. 8. Efecto del metabolismo en los niveles de benceno en los compartimentos: VRG (tejidos ricos en vasos sanguíneos) MG (tejido muscular) y FG (tejido graso). En ordenadas se expresa el porcentaje de saturación de cada compartimento. (Tomado de Fiserova-Bergerova, 1974).

Las exposiciones industriales, son repetitivas y por tanto los intervalos entre jornadas no son lo suficientemente largos como para eliminar por completo el benceno del compartimento FG. Esto tiene como resultado que se produzca una acumulación ya que cada nueva exposición incrementa el nivel del benceno en el tejido graso, por lo cual tanto en los periodos de exposición como en la eliminación se incrementan los valores de benceno en aire exhalado, como se refleja en la Fig. 9. Este aumento hace que la concentración de benceno en aire exhalado tomado el martes por la mañana sea la tercera parte del hallado en la mañana del viernes o sábado durante la primera semana de exposición.

Perbellini (28), ha desarrollado un modelo fisiológico-matemático de ocho compartimentos para el estudio de la exposición humana a disolventes orgánicos.

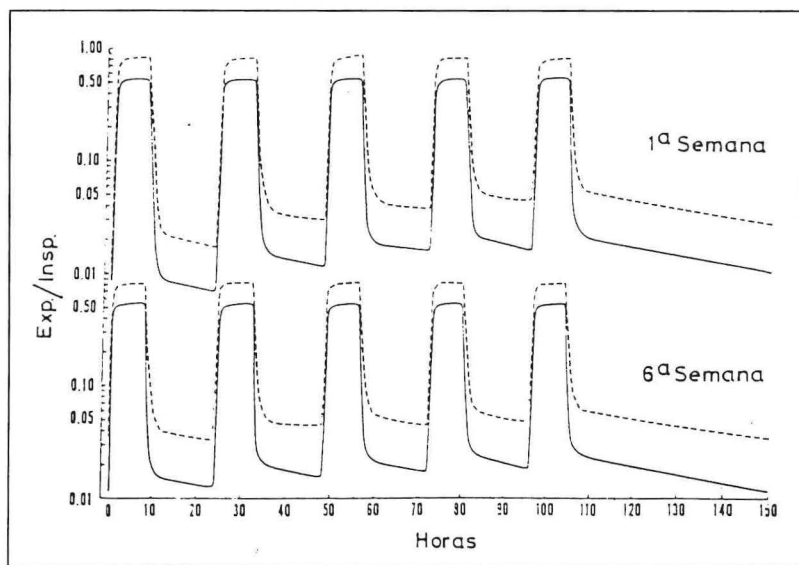


Fig. 9. Concentración de benceno en aire exhalado (exp) durante la primera y sexta semana de exposición a una concentración constante (insp.). La línea continua supone que existe metabolismo y la línea de puntos representa una situación de metabolismo nulo. (Tomado de Fiserova-Bergerova, 1974).

Este modelo permite la simulación de la absorción, distribución, biotransformación, excreción de un disolvente orgánico y la cinética de sus metabolitos. Aplicado a la distribución del n-hexano, los resultados son comparables con los datos obtenidos en estudios experimentales.

En el caso concreto del aire exhalado la concentración alveolar de n-hexano obtenida, para una exposición de ocho horas a  $360 \text{ mg/m}^3$ , oscila entre el 77,5% de la concentración ambiental a los 60 minutos de iniciarse ésta y el 83,3% al final de la exposición. Estos valores son similares a los obtenidos experimentalmente.

Por otro lado cuando se simulan condiciones de exposición similares a la descrita durante cinco días a la semana también se observa incremento notable de la concentración de n-hexano en tejido graso lo que produce una acumulación difícil de eliminar en un periodo corto de tiempo, precisando al menos 10 días para su completa eliminación.

#### IV. NORMALIZACION DE MUESTRAS DE AIRE EXHALADO

Es muy importante la estandarización de la muestra de aire exhalado, tanto en lo referente al tipo de muestra como el momento más adecuado para tomarla. En relación con el primer aspecto, cabe distinguir entre muestras de aire exhalado mezclado, que es una mezcla de aire alveolar y de aire ambiental retenido en el volumen muerto del sistema respiratorio (boca, nariz, faringe, tráquea y bronquios) y aire exhalado final que prácticamente es aire alveolar.

El aire exhalado mezclado, pueden utilizarse para análisis cualitativos o como indicativo de exposición a los compuestos químicos investigados, pero no es recomendable su uso con fines cuantitativos ya que contiene una proporción de aire alveolar diluida en aire procedente del volumen muerto y por tanto una concentración de disolventes muy variable.

La utilización del aire alveolar ofrece mayores ventajas para ser utilizado como un indicador biológico cuantitativo. El perfil de la concentración de un disolvente en el aire respiratorio exhalado, tal como se describe en la Fig. 10, permite distinguir 3 fases: al inicio de la expiración aparece la fase I, que no contiene disolvente o solamente trazas de los mismos. Esta fase es seguida por un incremento rápido en la concentración de disolvente, correspondiente a la fase II, este incremento va decayendo lentamente conforme se va exhalando aire alveolar, esta fase tiene un ligero gradiente que puede atribuirse a la



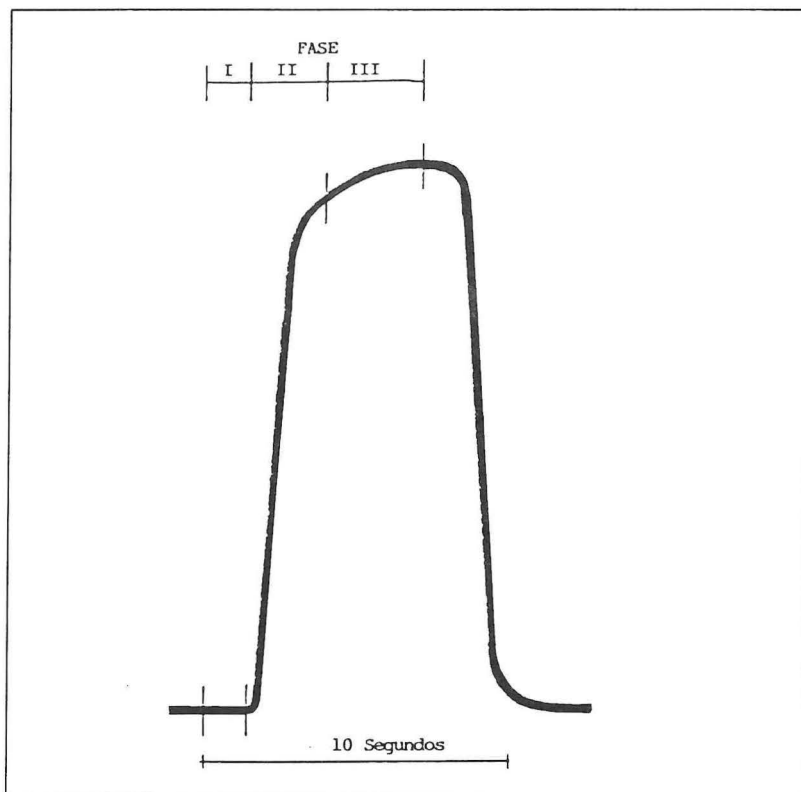


Fig. 10. Perfil de concentración de un disolvente en aire exhalado durante una exhalación sencilla. (Tomado de Wilson, 1986).

continua liberación de vapor de disolvente desde el alveolo. La caída rápida de la concentración que sigue a esta última fase, corresponde a la inhalación de aire limpio.

Este modelo de exhalación, que ha sido comprobado experimentalmente para diversos compuestos (29, 30), puede ser útil para el diseño de un método de captación de aire alveolar. Como se puede observar la captación de aire realizada, por ejemplo, durante la fase II, no refleja adecuadamente la concentración en aire alveolar que debería obtener en la fase III de la exhalación.

Una muestra de 200 ml. de aire exhalado tomada en la última parte de la exhalación generalmente proporcionará una muestra válida de aire alveolar. Por esta razón, se han de diseñar sistemas que permitan asegurar este tipo de captación.

En relación con el momento más adecuado de tomar la muestra se ha de buscar una solución de compromiso ya que hemos de tener en cuenta diversos aspectos tales como:

El tipo de compuesto químico a investigar

Las posibilidades de detección que nos permite la técnica analítica

La operatividad del procedimiento

Las características químicas del compuesto químico investigado tienen mucha importancia, ya que sus mecanismos de distribución y eliminación podrán condicionar su muestreo. Cuando se trata de compuestos liposolubles la estrategia del muestreo puede estar orientada a la búsqueda del grado de acumulación, para lo cual sería conveniente tomar la muestra al final de un periodo semanal de exposición, más concretamente al iniciar la última jornada de trabajo, para determinar el disolvente acumulado en tejido graso durante la semana.

Por otro lado, las determinaciones realizadas al final de la exposición han de estar muy controladas puesto que la mayoría de los disolventes tienen una fase de eliminación rápida al finalizar la exposición y se debe realizar un control riguroso del tiempo en que se hace la toma de muestra en la relación con la finalización de la misma.

Finalmente, cuando se realizan muestreos de aire exhalado durante la jornada de trabajo, es decir, inhalando aire contaminado, obtendremos resultados que no son comparables con los obtenidos una vez finalizada la exposición, ya que los mecanismos del equilibrio alveolar son diferentes cuando se inhala aire contaminado o limpio, como se ha explicado anteriormente.

Durante el periodo de exposición, la concentración en aire exhalado irá aumentando con mayor o menor intensidad para estabilizarse durante la primera hora de exposición en el caso de disolventes con un elevado índice de metabolización y solubilidad. En los disolventes poco metabolizados, este crecimiento sigue una función exponencial.

Por tanto, según el grado de metabolización, el instante en que se tome la muestra, en relación con el inicio de la exposición, puede tener una notable influencia en el valor obtenido, ya que, mientras en disolventes con elevado grado de metabolización este valor es prácticamente independiente del momento de la toma de muestra, para disolventes poco metabolizados puede ir aumentando durante todo el periodo de exposición.

Otro aspecto a tener en cuenta al establecer una estrategia de muestreo es la capacidad de detección de la técnica analítica que se vaya a utilizar, puesto que la concentración de la muestra será diferente según el instante en que se tome ésta. Como se ha indicado anteriormente, durante el periodo de exposición, los valores más elevados de concentración serán al finalizar la exposición, o durante el último tercio de la misma. Una vez finalizada ésta, los valores más elevados se obtendrán en el periodo de tiempo inmediatamente posterior al cese de la exposición, para decrecer exponencialmente hasta periodos de eliminación lenta, procedente fundamentalmente de la fracción acumulada en tejido graso.

En esta última fase o al inicio de la siguiente exposición, es cuando los valores de la concentración del disolvente en aire exhalado alcanzan los valores más bajos, y por lo tanto, cuando más difícil resulta su detección y cuantificación. Por el contrario, en los periodos de tiempo inmediatamente anterior y posterior a la finalización de la exposición es cuando la concentración en aire exhalado alcanza sus valores máximos y por tanto es más fácil su evaluación bajo el punto de vista analítico. No obstante, las determinaciones realizadas al inicio de la jornada pueden optimizarse si se realizan en la última jornada semanal de trabajo puesto que así se determina la máxima acumulación, ya que ésta se va incrementando diariamente y por tanto es presumible esperar la mayor concentración en aire exhalado en ese instante.

En cualquier caso, puede resultar de enorme interés el diseño de sistemas que permitan enriquecer la muestra a analizar puesto que así se puede ampliar la capacidad de detección de la técnica analítica.

Finalmente esas variables obligarán a plantear la estrategia de muestreo más adecuada dentro de los límites que marca la posibilidad real de llevarla a cabo e intentando conjugar cuestiones tan diferentes

como las mencionadas, que abarcan aspectos fisiológicos, analíticos, técnicos y operativos.

No obstante es muy importante, en cualquier caso, fijar y controlar las variables antes enunciadas puesto que el resultado del muestreo estará condicionado por ellas. Una de las mayores dificultades actuales es la imposibilidad de comparar los resultados obtenidos en diferentes muestreos, debido a que se han utilizado estrategias diferentes. Este aspecto cobra mayor importancia cuando se intentan comparar los valores obtenidos en un control biológico con los límites biológicos de exposición previamente establecidos, puesto que es necesario utilizar el mismo procedimiento operativo que el seguido para fijar dicho límite.



## V. EXPERIMENTACION

La posibilidad de utilizar aire exhalado como un espécimen apropiado para el control biológico de exposiciones ambientales, se ha puesto de manifiesto en numerosos trabajos experimentales en los que se ha establecido su relación con otros parámetros biológicos o ambientales tanto en poblaciones laborales como de voluntarios.

En principio se pueden considerar dos tipos de trabajos, según hayan realizado la captación de aire exhalado durante el periodo de exposición o post-exposición.

Entre los primeros cabe destacar el realizado por Brugnone y col. (31) donde estudian diez disolventes diferentes, entre los que se encuentran tolueno, estireno, metil-etilcetona, dimetil formamida junto con ciclohexano, metilciclopropano, n-hexano e isómeros.

Las poblaciones estudiadas para cada disolvente oscilan entre 41 y 115 individuos y en todos los casos se realizaron muestreos simultáneos de aire exhalado y ambiental durante la jornada laboral.

Posteriormente correlacionan la concentración alveolar ( $C_{ae}$ ) con la concentración ambiental inspirada ( $C_a$ ). Para los disolventes con elevada solubilidad en sangre, como el tolueno, la relación  $C_{ae}/C_a$  siempre fué inferior a 0,5, mientras que los disolventes con baja solubilidad en sangre como el n-hexano y sus isómeros esta relación es superior a 0,5.

Perbellini y cols. (32) realizaron un trabajo similar, determinando ciclohexano en aire alveolar y ambiental junto con su determinación en sangre y ciclohexanol urinario. Todas las muestras fueron tomadas

durante la segunda mitad del turno de trabajo, obteniendo buenas correlaciones entre todos los parámetros estudiados y sugiriendo que el control biológico por vía alveolar y urinaria pueden ser usados con garantías.

Igualmente, Brugnone, Perbellini y cols. (33), estudian la exposición laboral a óxido de etileno en 10 trabajadores empleados en un hospital. En su estudio determinan la concentración alveolar, ambiental y sanguínea de óxido de etileno durante el periodo de exposición. Todos los parámetros estudiados se correlacionan bien entre ellos.

Los compuestos halogenados constituyen un campo de interés preferente para este tipo de estudios debido a su capacidad de acumulación en tejido graso y por tanto, la posibilidad de encontrarlos en el aire exhalado, incluso en periodos bastante alejados del final de la exposición.

Un estudio efectuado en personas expuestas a 1,1,2 tricloro-1,2,2 trifluoretano (Freón R 113) es realizado por Triebig y Burkhardt (34). Para concentraciones en aire entre 13 y 111 ppm. se obtienen para 10 trabajadores expuestos, unas concentraciones al final de la jornada que oscilan entre 1 y 33,8 ppm.

También estudian la exposición laboral al diclorometano Perbellini y cols. (35), mediante su determinación en aire alveolar, aire ambiental y sangre venosa, obteniendo una buena correlación entre sangre y aire alveolar para los catorce trabajadores estudiados, que trabajan con residuos de poliuretano.

El incremento de la concentración de halotano en el aire exhalado final, antes y después de la jornada de trabajo en quirófanos la estudian Pfaffli y cols. (36), obteniendo incrementos de 0,90 a 0,55 ppm. en quirófanos sin ventilación.

Monster y Zielhuis (37), realizan una recopilación de los valores reseñados en numerosos trabajos con disolventes halogenados. En general destacan la posibilidad de utilizar su determinación en aire exhalado como indicador de exposición. También consideran la posibilidad de utilizar determinaciones en aire alveolar de otras especies procedentes de su metabolización, como la determinación de CO en el caso de la exposición de diclorometano, ya que una exposición

a 100 ppm. de este compuesto durante 8 horas puede dar concentraciones de monóxido de carbono en aire exhalado a las 16 horas de finalizar una exposición de 15-30 ppm. (38).

Para el metilcloroformo, estos autores recogen las concentraciones en aire exhalado obtenidas en las valoraciones realizadas a voluntarios después de una exposición, y publicadas por Stewart y cols. (39, 40, 41), Fukabori (42), Astrand y cols. (43), Monster y cols. (44), Humbert y Fernández (45) y Rowe y cols. (46) con objeto de estimar la concentración en aire exhalado (Ca) en función de la concentración inhalada (Ci).

La conclusión obtenida es que conforme se incrementa la duración de la exposición, la concentración relativa en aire alveolar es mayor. Así, después de una exposición en reposo de 6-8 horas, las concentraciones medias en aire alveolar (Cae) expresadas como porcentaje de la concentración inhalada (Ca), tienen aproximadamente estos valores:

19% (1/2 hora); 15% (1 hora); 2,4% (16 horas); 0,6% (64 horas)

Sin embargo las concentraciones medias después de una exposición en reposo de 6-8 horas/día durante 5 días semanales serán aproximadamente:

30% (1/2 hora); 20% (1 hora); 4% (16 horas); 1% (64 horas)

A partir de este perfil de eliminación se podrían extrapolar los valores en aire exhalado para una exposición ambiental del orden del valor límite ambiental TLV-TWA, que para el caso del metil cloroformo es de 350 ppm (47). Los valores en aire exhalado esperados serán aproximadamente de:

105 ppm. (1/2 h.); 14 ppm; (16 h.) y 35 ppm. (64 h.).

Estos valores son muy próximos a los calculados según el modelo matemático de Caperos (26), sobre todo en el valor correspondiente a las 16 horas de finalizar la exposición que resulta ser de 15,1 ppm.

Sin embargo, en exposiciones industriales se han obtenido valores más elevados de concentración para las 16 y 64 horas de finalizar la exposición. Ello quizá sea debido a una mayor acumulación del metilcloroformo en tejido graso en la exposición semanal repetida durante meses, puesto que los valores obtenidos del estudio con voluntarios procedían de una única exposición semanal.



Para el tricloroetileno, Monster y Zielhuis, también recogen los valores publicados en estudios con voluntarios realizados por Astrand y cols. (48), Nomiyama y cols. (49,50), Stewart y cols. (51, 52), Kimmerle y cols. (53), Monster y cols. (54,55), Sato y cols. (56), Muller y cols. (57) y Fernández y cols. (25).

Los resultados obtenidos permiten predecir que después de una exposición en reposo de 6-8 horas, las concentraciones medias en aire alveolar (Cae) expresadas como porcentaje de la concentración inhalada (Ca) tendrán aproximadamente estos valores:

6%-7% (1/2 hora), 4% (1 h.), 0,6%-0,7% (16h); 0,15% (64h.)

Mientras que los valores en aire exhalado extrapolados de los estudios con voluntarios, después de una exposición ambiental a 100 ppm., serán aproximadamente:

6,7 ppm. (1/2 hora) y 0,6-0,7 ppm. (16 horas)

Los valores que predice el modelo matemático desarrollado por Fernández y Droz (25) para una exposición a la misma concentración ambiental, nos daría los siguientes valores:

8,5 ppm. (1/2 hora) y 0,7 ppm. (16 horas)

Se puede observar por tanto, una gran concordancia entre ambos resultados.

Si se calculan los valores correspondientes a una exposición del orden del valor límite ambiental TLV-TWA (47) que es de 50 ppm., los valores esperados en aire exhalado después de una exposición de 6-8 horas a esta concentración ambiental serían aproximadamente:

3-3,5 ppm. (1/2 h.), 0,3-0,35 ppm. (16 h.); 1 ppm. (64 h.)

Tricloroetileno y metil cloroformo, se metabolizan a tricloroetanol y, por tanto, pueden ser excretados como tal por vía respiratoria. Se han encontrado correlaciones muy ajustadas entre la concentración de tricloroetanol en sangre y aire exhalado en personas expuestas a tricloroetileno (54,55). Aunque su concentración en aire alveolar es mucho más baja que la presente en sangre, permite predecir su concentración en este medio sin necesidad de realizar una extracción.

La concentración de tricloroetanol en aire exhalado, procedente de la inhalación de metil cloroformo, alcanza valores mucho más bajos que los obtenidos para exposiciones similares de tricloroetileno.

El tetracloroetileno que también es ampliamente utilizado como desengrasante industrial, tiene una escasa metabolización, por lo que su eliminación se realiza prácticamente sólo por vía respiratoria.

Monster y Zielhuis, realizan una recopilación de los resultados publicados por Stewart y cols. (58,59), Fernández y cols. (24), Monster y cols. (60), Hake y Stewart (61).

El perfil en concentraciones en aire exhalado (Cae), expresadas como porcentaje de la concentración inhalada (Ca), después de una exposición de voluntarios durante 6-8 horas, en reposo, predice los siguientes valores medios aproximados:

23% (1/2 h.); 18% (1 h.); 4% (16 h.); 2% (64 h)

Sin embargo cuando se considera una exposición semanal de 6-8 horas diarias, estos valores se incrementan obteniéndose los siguientes:

35% (1/2 h.); 30% (1 h.); 8% (16 h.); 5% (64 h.)

Las concentraciones en aire exhalado que se pueden extrapolar a partir de estos valores de eliminación para una exposición semanal a 50 ppm., que es el valor TLV-TWA, serán los siguientes:

17,5 ppm. (1/2 h.); 15 ppm (1 h.); 4 ppm. (16 h.); 2,5 ppm. (64 h.) mientras que los obtenidos por el modelo matemático desarrollado por Guberman y Fernández (23) son los siguientes:

17,5 ppm. (1/2 h.); 15,5 ppm. (1 h.); 4 ppm (16 h.)

Como se puede observar, ambas series de valores son prácticamente iguales.

El cloruro de metilo inhalado, se metaboliza rápidamente. Van Dorp y cols (62) identifican la 5-metilcisteína como un metabolito del cloruro de metilo, sin embargo no todas las personas presentan la misma capacidad de transformación. La mayoría de xenobiotico retenido es eliminado por orina como 5-metilcisteína en 4 de cada 6 trabajadores expuestos, pero los otros dos excretan menos de 10%.

Stewart y cols. (63) y Putz-Anderson y cols. (64), también observan dos grupos entre voluntarios expuestos a cloruro de metilo, de tal forma que se pueden distinguir entre una minoría con baja capacidad de transformación que eliminan muy poca 5-metil-cisteína en orina,

y por tanto tienen una concentración elevada de cloruro de metilo en sangre y aire exhalado, mientras que la mayoría de la población excretarán en orina un alto porcentaje del compuesto, después de su metabolización, por lo que su contenido en sangre y aire exhalado, será muy bajo.

Las concentraciones halladas por Stewart en aire exhalado después de exposiciones ambientales a cloruro de metilo que oscilan entre 20 y 150 ppm. durante 7,5 horas, expresadas como porcentaje de la concentración ambiental son las siguientes:

1,8%-2% ppm. (0,5 h); 1%-0,9% (1 h); 0,6%-0,5% (2 h)

Estos valores corresponden al grupo mayoritario de los sujetos con alta capacidad de metabolización, sin embargo para los individuos con esta capacidad reducida, se obtuvieron valores hasta seis veces mayores a la hora de finalizar la exposición. Esta acumulación anormal para ciertos individuos debe tenerse en cuenta cuando se realice un control biológico de este compuesto.

Como ya se mencionó anteriormente el diclorometano se metaboliza a CO. Este hecho fue puesto de manifiesto por Stewart y cols. (65) y posteriormente comprobado, mediante la dosificación de C<sup>14</sup>-diclorometano a ratas, por Carlsson y Hultengren (66).

Según Di Vincenzo y Kaplan (67) el 25% del diclorometano absorbido se excreta como CO mientras que el compuesto inmetabolizado eliminado por vía respiratoria en la post-exposición tan sólo es un 5% de la cantidad absorbida. Estos mismos autores no observan acumulación en exposiciones repetidas.

En los estudios realizados con voluntarios por Stewart y cols. (68) encuentran CO en el aire alveolar en todos los casos, alcanzando su valor máximo entre 1-2 horas después de finalizar la exposición.

Aunque se puede realizar el control biológico de exposición a diclorometano determinando su concentración en aire exhalado, durante exposiciones superiores a 3-4 horas al día, el factor que determina el riesgo para la salud es la producción de CO y puede ser más adecuada la determinación del CO en aire exhalado o de Carboxihemoglobina en sangre.

El metabolismo del Tetracloruro en carbono no está muy estudiado en el hombre, pero al menos el 5% de la dosis absorbida se elimina

por vía respiratoria en estudios realizados con monos por Mc Collister y cols. (69). Así, en el aire exhalado mezclado, Stewart y cols. (70), encuentran concentraciones de 2-3 ppm. al final de una exposición de 6 hombres a 10 ppm. de tetracloruro de carbono durante 3 horas. Estos valores descienden a 0,7 ppm. después de 1 hora y a 0,3 ppm. después de 5 horas. Tras una exposición de 70 minutos a una concentración de 49 ppm. se obtuvieron 10-20 ppm. al finalizar la exposición, y menos de 1 ppm. y 0,3 ppm. en las muestras de aire exhalado tomadas a la hora y 5 horas de finalizar la exposición, respectivamente.

Para el dicloroetano, Yllner (71) establece mediante estudios en ratas, que entre el 10-42% del compuesto absorbido es eliminado en aire exhalado y Urusova (72) analiza la concentración de 1,2-dicloroetano en aire exhalado de mujeres expuestas laboralmente a una concentración de 15,5 ppm. de 1,2-dicloroetano. Cerca del final de la jornada de trabajo la concentración obtenida en aire exhalado fue de 14,5 ppm. y a las 18 horas de finalizar ésta, 2,4 ppm.

Entre los hidrocarburos aromáticos utilizados industrialmente, destaca por su toxicidad el benceno, ello ha motivado también un destacado interés en cuanto al control biológico de los individuos expuestos laboralmente a este compuesto. Lauwerys (73), hace una recopilación de los trabajos publicados por diversos autores en relación con la determinación de este compuesto en aire exhalado.

De las tres fases de eliminación del benceno por esta vía, la tercera (que indica la pérdida de este compuesto desde el tejido graso) tiene una vida media entre 20 y 30 horas.

Como ocurre con la mayoría de compuestos volátiles, se puede esperar que el contenido de benceno en aire exhalado a la mañana siguiente a la exposición refleje la dosis recibida el día anterior (ppm. x h). Este puede ser por tanto, un buen índice de impregnación (74).

De los trabajos experimentales realizados por Sherwood y Carter (75), Parkinson (76), Sherwood (77,78), Hunter y Blair (79). Lauwerys, extrae los resultados obtenidos en la determinación de benceno en aire exhalado a las 16 horas de finalizar la exposición y los relaciona con la dosis recibida el día anterior, obteniendo la recta de regresión:

$$y = 0,049 + 0,0009 x; r = 0,85, p < 0,005$$

ido  $x$ , la dosis de benceno ( $\text{ppm} \cdot x \text{ h}$ ) e  $y$ , la concentración de  $o$  en aire exhalado a las 16 horas de finalizar ésta.

rlin y cols. (80), elaboran un modelo basado en las observaciones realizadas a grupos de voluntarios expuestos a concentraciones roladas de benceno (2-10 ppm), hasta 6 horas al día, durante 5 consecutivos. Fue medida la acumulación y eliminación del ceno mediante su determinación en aire exhalado resultando que, a exposición diaria a 10 ppm, produce un nivel en aire exhalado que excede de 0,1 ppm. Money y Gray (17) han realizado un trabajo determinando benceno en aire exhalado antes de iniciar la jornada laboral en trabajadores expuestos a concentraciones ambientales de 0,02-0,9 ppm, detectando su presencia en todos los casos y observando un incremento semanal.

Otros autores, estiman que una exposición durante 3 días a concentraciones de 115 ppm por día, puede producir una acumulación de tejido graso que condiciona unos valores de concentración en aire exhalado, en la mañana del sexto día, entre 0,3-0,4 ppm y que equivalen al doble de los obtenidos en la mañana del segundo día (78). Para revisiones de rutina, también se han propuesto la toma de muestras al final de la jornada de trabajo (81).

La determinación de benceno en aire exhalado es un método altamente sensible y muy específico para evaluar o confirmar la exposición a benceno. Sobre todo teniendo en cuenta la inespecificidad de otros indicadores biológicos, como el contenido de fenol en orina. Sin embargo la concentración de benceno en humo de cigarrillos es elevada, entre 47 y 64 ppm. (82), y se han encontrado diferencias significativamente mayores en la concentración en aire exhalado de fumadores (83). Por lo tanto, aunque la determinación de benceno es muy específica no implica necesariamente la exposición ambiental al mismo, sobre todo en el caso de fumadores.

Otros hidrocarburos aromáticos de amplia utilización industrial son los xilenos, sobre todo los isómeros meta y para. Engstrom y cols. (84), realizan un estudio sobre la exposición ocupacional al xileno en 15 pintores. Uno de los parámetros biológicos que determinan es la concentración en aire exhalado final, llevando a cabo la determinación del mismo, tanto durante la exposición como en el periodo posterior de eliminación. Durante la jornada de trabajo encuentran

una gran variabilidad de resultados, probablemente motivada por la gran variación de concentración ambiental a que estuvo sometido cada individuo. En la post-exposición, agrupan los individuos en tres categorías según su nivel de exposición, A (1-20 ppm); B (21-40 ppm) y C (41-70 ppm), obteniendo los siguientes valores medios:

- A) 4,6 ppm (1 min); 2 ppm (90 min); 1,5 ppm (180 min);  
1,8 (960 min)
- B) 9,8 ppm (1 min); 3,5 ppm (90 min); 2,4 ppm (180 min);  
2,2 ppm (960 min)
- C) 17,8 ppm (1 min); 3,5 ppm (90 min); 3,4 ppm (180 min);  
4,8 ppm (960 min)

Es de notar que en algunos casos la concentración a la mañana siguiente (960 minutos) es mayor que la correspondiente a la tarde precedente (180 minutos).

El estireno tiene una enorme importancia comercial, ya que se utiliza en la fabricación de polimeros, copolímeros y sobre todo, en la producción de plásticos del tipo fibra de vidrio-poliestireno. Por este motivo se han realizado diversos estudios sobre su absorción, distribución y eliminación en el cuerpo humano. Una pequeña fracción menor del 5% del estireno absorbidos es eliminada sin metabolizar por vía respiratoria (85-86), lo que posibilita su determinación en ese medio, como un indicador de exposición. Lauwerys (87) recoge los estudios realizados por diversos autores, así Stewart y cols. (88) exponen voluntarios a 99,4 ppm. de estireno durante siete horas, detectando la presencia de estireno en las muestras de aire exhalado.

En las determinaciones realizadas treinta minutos antes de finalizar la exposición, encuentran un valor medio de 27,4 ppm. Oltramare y cols. (89) exponen 4 voluntarios a vapores de estireno hallando correlaciones significativas entre las concentraciones en aire exhalado y ambiental durante la exposición.

Después de finalizar la exposición, Gotell y cols. (90) relacionan la intensidad de la misma con la concentración de estireno tomada a diversos intervalos de tiempo. Guillermin y Berode (91) recogen una función exponencial que relaciona la concentración ambiental y la concentración en aire exhalado mezclado, recogido t horas después

de finalizar una exposición de 8 horas (93) (94). Según esta expresión, para una exposición de 8 horas a 50 ppm ( $215 \text{ mg/m}^3$ ) la concentración en aire exhalado recogida a las 16 horas de finalizar la exposición sería de  $0,17 \text{ mg/m}^3$ . Los valores calculados mediante un modelo fisiológico matemático para una concentración ambiental de  $215 \text{ mg/m}^3$ , oscilan entre 16 y  $25 \text{ mg/m}^3$  al final de la jornada en cualquier día de la semana, mientras que antes de iniciar la jornada de trabajo oscilan entre 0 y  $1 \text{ mg/m}^3$  (92).

La acetona, es un compuesto que aparece en numerosas formulaciones industriales, de ahí que también se hayan realizado estudios experimentales que exploran la posibilidad de su determinación en aire exhalado como indicador de exposición laboral, aunque en este caso se acentúa la posibilidad de su determinación en aire exhalado como indicador de exposición laboral, aunque en este caso se acentúa la posibilidad de que estas determinaciones puedan estar afectadas por interferencias de carácter endógeno como se mencionó al comienzo de este capítulo. En un estudio realizado por Wigaeus y cols. (95), con voluntarios expuestos durante 2 horas en reposo a una concentración de  $1800 \text{ mg/m}^3$  de acetona, encuentran durante la exposición, un valor prácticamente constante de aproximadamente  $500 \text{ mg/m}^3$  en aire exhalado, mientras que en la fase de eliminación, ésta concentración decrece rápidamente durante los primeros minutos alcanzando un valor de  $15 \text{ mg/m}^3$  a las 4 horas de finalizar la exposición. Estos valores son superiores a los hallados por Brugnone (31) y Nomiyana (17).

Aunque la solubilidad en agua de los glicoles y sus derivados hace que sea discutible la concentración en aire exhalado de estos compuestos, sobre todo cuando se trata de aire exhalado mezclado, ya que se puede producir una gran variabilidad en los valores obtenidos, Groeseneken y cols. (96), realizan un trabajo sobre la eliminación respiratoria del eter monoetílico del etilenglicol exponiendo 10 voluntarios a éste compuesto bajo diversas condiciones. A partir de los resultados obtenidos estiman una eliminación respiratoria inferior al 0,4% y aunque la concentración en aire exhalado decrece muy rápidamente a los pocos minutos de cesar la exposición, después se observa un decrecimiento mucho más suave, lo cual permite establecer una ecuación de regresión con dos términos exponenciales.



También para el eter monoetilico del propilenglicol, Stewart y cols. (97) detectan en voluntarios expuestos a 240 ppm durante un periodo de tiempo que oscila entre 0,25 a 3 horas una concentración media en aire exhalado de 4 ppm al finalizar la exposición.

Finalmente y como muestra de los trabajos efectuados en personas no expuestas laboralmente, cabe mencionar los realizados por Verberk y cols. (98), determinando tetracloroetileno en aire exhalado de 136 personas residentes cerca de establecimientos de limpieza en seco, encontrando valores medios de tetracloroetileno en aire exhalado del orden de 5 mg/m<sup>3</sup> en personas que viven en el mismo edificio, 1 mg/m<sup>3</sup> en casas adyacentes y 0,2 mg/m<sup>3</sup> en casas próximas, mientras que la media de los trabajadores en las tintorerías estudiadas fué de 73 mg/m<sup>3</sup>.

En estudios de caracterización del aire aspirado humano llevados a cabo por Krotoszynski (11), se recogieron muestras de 28 voluntarios representativos de diversas razas humanas, sujetos a un estricto protocolo antes de tomar la muestra, evitando exposición a perfumes, pinturas, pegamentos, aerosoles, humo de tabaco, etc. para minimizar los resultados erróneos. Recogiendo muestras de 20 litros de aire y concentrándolas antes de su análisis, se detectaron 102 compuestos orgánicos de origen endógeno y exógeno.

En base a estudios teóricos y experimentales se han ido adoptando índices biológicos en aire exhalado con objeto de poder utilizar este espécimen en el control biológico de exposiciones industriales. Así la American Conference of Governmental Industrial Hygienists, publica para 1989-1990 índices biológicos (BEI) en aire exhalado para 8 disolventes (47). La Comisión para la investigación de riesgos para la salud de los compuestos químicos en el área de trabajo, de la Deutsche Forschungsgemeinschaft, publica para 1989 valores de tolerancia biológica (BAT) para tres compuestos clorados (99).

En la tabla I se exponen los valores BEI y BAT, antes citados así como el tipo de muestreo a que están referidos.



**TABLA I. INDICES DE EXPOSICION BIOLOGICA EN AIRE EXHALADO PARA DISOLVENTES**

CONTAMINANTE	TIPO DE MUESTRA	TIEMPO DE MUESTREO	BEI	BAT
Etilbenceno	Aire exhalado final	Antes de iniciar la jornada de trabajo	2 ppm	
Estireno	Aire exhalado mezclado Aire exhalado mezclado	Antes de iniciar la jornada de trabajo Durante la jornada de trabajo	40 ppb 18 ppm	
Tolueno	Aire exhalado final	Durante la jornada de trabajo	20 ppm	
Tricloroetileno	Aire exhalado final	Antes de iniciar la exposición, al final de una semana de trabajo	0,5 ppm	
Benceno	Aire exhalado final Aire exhalado mezclado	Antes de iniciar la jornada de trabajo Antes de iniciar la jornada de trabajo	0,12 ppm 0,08 ppm	
n-Hexano	Aire exhalado final	Durante la jornada de trabajo	40 ppm	
Metilcloroformo	Aire exhalado final	Antes de iniciar la exposición, al final de una semana de trabajo	40 ppm	20 ppm
Percloroetileno	Aire exhalado final	Antes de iniciar la exposición, al final de una semana de trabajo	10 ppm	9,5 ppm
Tetracloruro de carbono	Aire exhalado	Una hora después de finalizar la exposición		1,6 ppm

BEI = Índice de exposición biológica AGGIH 1990 - 91

BAT = Valores de tolerancia biológica R.F. Alemania. 1989

## VI. SISTEMAS DE CAPTACION

La metodología utilizada en la captación de aire exhalado es muy variada y actualmente está poco normalizada, de ahí que en muchas ocasiones, no se puedan comparar los resultados obtenidos en diferentes trabajos experimentales.

Como se indicó anteriormente cabe distinguir entre aire exhalado mezclado y aire exhalado final, así pues, también cabría distinguir entre procedimientos de captación encaminados a recoger cada una de estas variedades de aire exhalado.

### Aire exhalado mezclado

Este tipo de muestra de aire exhalado normalmente no se utiliza con fines cuantitativos, puesto que según se explicó en IV., es una mezcla de aire alveolar y aire procedente del volumen muerto del sistema respiratorio.

Entre los sistemas más ampliamente utilizados para este fin están las bolsas de materiales sintéticos inertes, cuyo único requerimiento es asegurar la recuperación de los componentes volátiles que contenga el aire exhalado, ya que se puede producir adsorción en las paredes, así Garriot y cols. (100) han encontrado pérdidas del 94% a los tres días, y del 87% a los nueve días de almacenar aire con Tolueno en bolsas de Teflón.

Uno de los materiales más utilizados para este fin es un polivinil-fluoruro denominado comercialmente Tedlar. La recuperación de disolventes orgánicos de este material ha sido ampliamente estudiada y en la Tabla II, se exponen los resultados obtenidos en la recuperación de tres disolventes a diferentes condiciones de humedad (100). También se ha ensayado la recuperación en bolsas de 2 litros de capacidad de polietileno y Tedlar para n-hexano y tolueno. En la tabla III se presenta la recuperación obtenida en muestras recogidas de una atmósfera controlada de 24 mg/m<sup>3</sup> de hexano y 13,2 mg/m<sup>3</sup> de tolueno (102).

Estas bolsas tienen diferente capacidad aunque normalmente suelen ser de 1,5 a 10 litros, no obstante se han llegado a utilizar volúmenes de hasta 20 litros (1). Están provistas de una válvula de entrada de aire a la que se puede acoplar un dispositivo que permita exhalar aire al individuo. También suele tener un septum que permite extraer alícuotas con una jeringa para su inyección a un cromatógrafo.

La exhalación se puede hacer directamente o bien mediante un dispositivo que permita la inhalación de aire limpio o filtrado, para eliminar la posible contaminación de la muestra.

**TABLA II RECUPERACION DE BOLSAS DE TEDLAR**

Cantidad añadida ng	Humedad	Recuperación % (a)		
		Benceno	Tetracloro- Etileno	Cloro- Benceno
100-200	100%	81 ± 0,7	212 ± 2,1	99 ± 0,7
300-600	100%	89 ± 2,1	112 ± 0,7	107 ± 1,4
100-200	0%	110 ± 12,0	114 ± 28 (b)	95 ± 9 (b)
150-300	0%		108 ± 3,5	102 ± 3,5
5-10	100%	93 ± 15 (c)	118 ± 16 (c)	97 ± 14 (c)

(a) Determinaciones por duplicado

(b) Promedio de cuatro determinaciones

(c) Promedio de siete determinaciones (tomado de Sheldon, 1986)

**TABLA III. RECUPERACION DE BOLSAS  
DE POLIETILENO Y TEDLAR**

Experiencia	Humedad	Recuperación (a)	
		n-hexano	tolueno
I	95%	90%	46%
II	95%	87%	40%
III	95%	96%	90%

(a) Promedio de tres determinaciones

- I. Bolsas de Polietileno pasadas a Carbón activo inmediatamente
- II. Bolsas de Polietileno pasadas a Carbón activo a los 20 minutos
- III. Bolsas de Tedlar pasadas a Carbón activo a las 24 horas

Monster y cols. (103), describen bolsas de Tedlar de 20 litros de capacidad utilizadas en la captación de Tricloroetileno y Tricloroetanol, el análisis lo realizan mediante la inyección al cromatógrafo de gases de volúmenes que oscilan entre 25 y 100 microlitos. También se puede llevar a cabo el análisis directamente, mediante válvula de gases.

Una de las ventajas que ofrece este tipo de muestreo radica en la posibilidad de realizar análisis repetidos de las muestras recogidas. Sin embargo es necesario mantenerla a temperatura superior a 20° durante el almacenamiento para evitar condensaciones debidas al elevado grado de humedad del aire. Tampoco es aconsejable un almacenamiento prolongado para evitar pérdidas significativas de aire.

Otros procedimientos para captación de muestras de aire exhalado mezclado, están basados en la captación directa del mismo, operando con el mismo principio de una mascarilla facial de protección, de tal modo que se inhala aire (que se hace pasar por un filtro convencional de carbón activo, con el objeto de purificarlo), y se exhala a través de un dispositivo sobre el que están instalados dos o más discos de carbón activo laminado que retienen los disolventes contenidos en el aire exhalado.

Algunos modelos, como el descrito por Morgan y cols. (104), van provistos de una segunda etapa de filtración mediante la cual recogen el vapor de agua contenido en el aire exhalado. Este modelo, descrito en la figura 11., se acopla al orificio de exhalación de una mascarilla facial. En la primera sección se realiza la adsorción cuantitativa de los vapores orgánicos que contiene el aire exhalado en dos capas de un tejido lanoso de carbón activo separado por juntas de Teflón. Este tejido tiene unas prestaciones similares al carbón activo granulado en cuanto a su eficacia de adsorción. La sección inferior contiene 70 gr. de tamiz molecular de 3 Å con una granulometría de 8-12 mallas para recoger el vapor de agua.

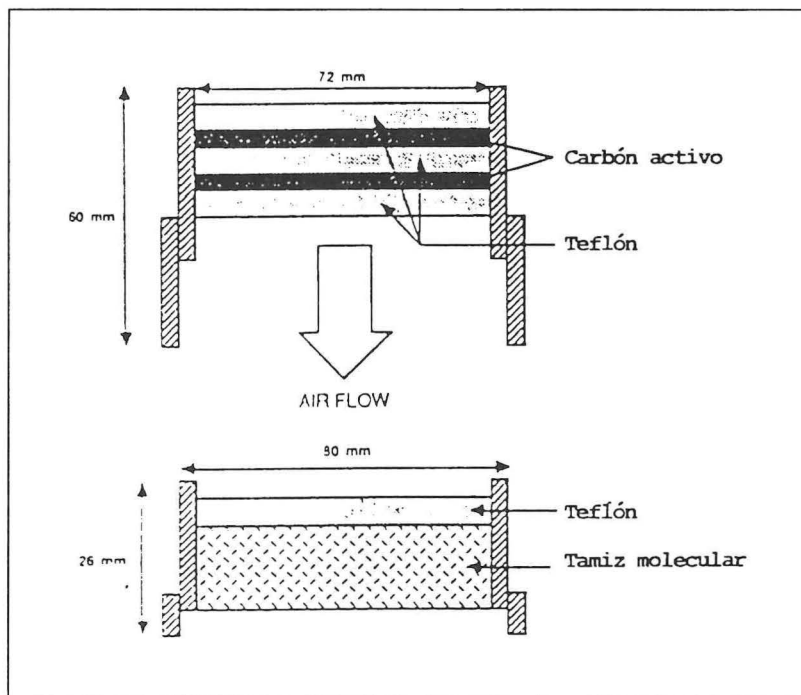


Fig. 11 Cartucho de muestreo respiratorio. En la sección superior se realiza la captación de vapores de disolvente y en la inferior se recoge el vapor de agua. (Tomado de Morgan, 1988).

Para comprobar si se ha saturado el primer lecho adsorbente se realiza el análisis por separado de los dos discos de carbón activo. Este se lleva a cabo después de la desorción con 10 ml. de sulfuro de carbono. El agua recogida se determina gravimétricamente y con este dato se puede estimar el volumen del aire que ha pasado por el cartucho, después de hallar la relación de equivalencia en estudios realizados con voluntarios.

Relacionando la masa de disolvente analizada con el volumen de aire, calculado en función del peso de vapor de agua recogido, se puede establecer la concentración media del aire exhalado mezclado durante el periodo de muestreo. En las experiencias realizadas con voluntarios expuestos a  $150 \text{ mg/m}^3$  de Tolueno, el periodo de muestreo osciló entre 15-20 minutos.

Glaser y cols. (105, 106) realizan un estudio comparativo entre la determinación en aire exhalado final, recogido en bolsas y un sistema de cartucho similar al descrito, llegando a la conclusión de que el muestreo de aire exhalado mezclado con éste procedimiento es tan preciso como el de aire exhalado final realizado con bolsas obteniendo una relación entre las concentraciones en aire exhalado mezclado y final similar a la obtenida para el dióxido de carbono en ambas fracciones respiratorias.

## **Aire exhalado final**

La tendencia más generalizada es la recogida de muestras de aire exhalado final intentando buscar la fracción alveolar del mismo que, como se sabe, se identifica mejor con la concentración del disolvente en sangre.

Para este fin se han desarrollado numerosos sistemas de captación de aire exhalado que se pueden agrupar a su vez en tres tipos.

### **Captación de un volumen de aire y análisis directo del mismo**

Estos procedimientos se basan en la recogida, en un recipiente adecuado de la fracción alveolar del aire exhalado y el análisis posterior de toda la muestra o una alícuota de la misma.

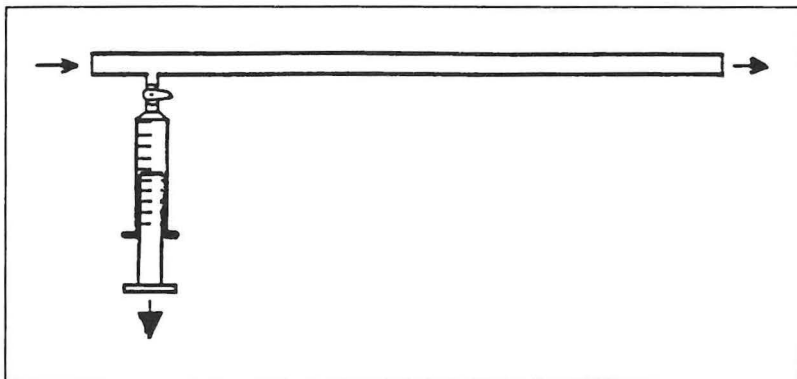
El más antiguo, descrito para recoger muestras alveolares de gases respiratorios, es el tubo de Haldane-Priestley. Consiste en un tubo de 100-120 cm. de longitud, a través del cual se realiza la exhalación, una vez finalizada ésta, se extrae un volumen de la columna estacionaria que permanece en el tubo y que se corresponde con la fracción alveolar. Este volumen se extrae con una jeringa de gases conectada a dicho tubo por la parte más próxima a la boca, como se indica en la figura 12.

Un gran número de los trabajos descritos en la bibliografía utilizan este procedimiento o están basados en él, como sucede con las ampollas de vidrio descritas en la figura 13. Estas tienen una longitud de 25 cm. aproximadamente y un volumen entre 50-200 ml. con tapones roscados en los extremos, de tal forma que exhalando a través de la ampolla y taponando rápidamente ambos extremos se puede recoger la última fracción del aire. Los tapones de cierre están agujereados y van provistos de juntas o septum inertes de tal manera que, posteriormente, se pueda pinchar con una jeringa para extraer una alícuota para su análisis.

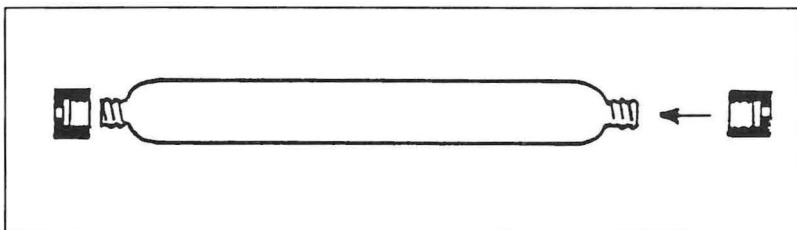
Este procedimiento, si se realiza a temperatura ambiente, puede producir una película de vapor de agua condensado en las paredes y ocasionar pérdidas por disolución del disolvente en la fase líquida. Por ello es recomendable la captación y almacenamiento a 37-40° y también se recomienda exhalar inicialmente durante tres veces consecutivas a través de una ampolla para recoger el aire tras la cuarta exhalación, después de contener brevemente la respiración. Este procedimiento es quizá el más utilizado en los trabajos experimentales con voluntarios y trabajadores expuestos (31).

Imbriani y cols. (107), también describen un sistema metálico de captación de aire exhalado, básicamente consiste en un tubo de aluminio de 133 mm de longitud y 18 mm de diámetro interno, mediante el cual pueden recoger un volumen de 32 ml. de la última fracción del aire exhalado a través del mismo mediante un sistema de válvulas accionadas manualmente. El aparato va provisto de un septum, a través del cual se puede extraer una alícuota del aire recogido para su análisis cromatográfico.

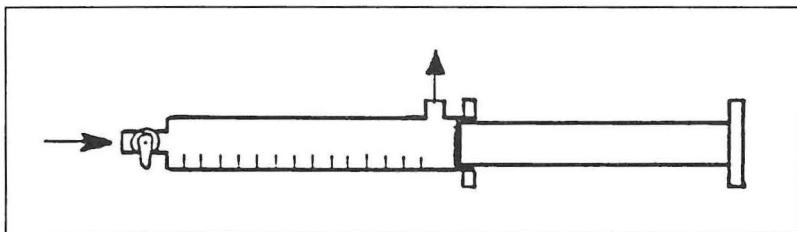
Otro procedimiento consiste en utilizar directamente jeringas con un orificio lateral como la descrita en la figura 14. Se sustituye la aguja



*Fig. 12. Tubo de Haldane - Priestley*



*Fig. 13. Ampolla de vidrio con tapones roscados y septum a ambos extremos*



*Fig. 14. Jeringa de gases con orificio lateral*



por un dispositivo que permita aplicarlo a la boca y se hace pasar el aire exhalado respiratorio a través de la jeringa, poniendo el émbolo en la posición descrita en la figura, de tal forma que permita la descarga por el orificio lateral. Una vez finalizada la exhalación, un ligero desplazamiento de avance del émbolo, permite recoger en la jeringa la última porción del aire exhalado, cerrando también la válvula de gases de entrada para conservar la muestra hasta su análisis. Este se realiza directamente cambiando el dispositivo bucal por una aguja que permita la inyección, de una alícuota o de todo el aire recogido en la jeringa a un cromatógrafo de gases.

También se pueden utilizar recipientes metálicos con un vacío parcial (19), como el representado esquemáticamente en la figura 15. Este recipiente está dotado de una válvula que permite recoger, manualmente la última fracción del aire exhalado a través del tubo flexible conectado a la misma, ya que, durante la exhalación, la sobrepresión en el interior del tubo abre una ranura que permite su salida y al final de la exhalación, el aire contenido en el tubo o una porción del mismo se puede introducir en el interior del recipiente presionando la válvula que comunica el recipiente a vacío con el tubo

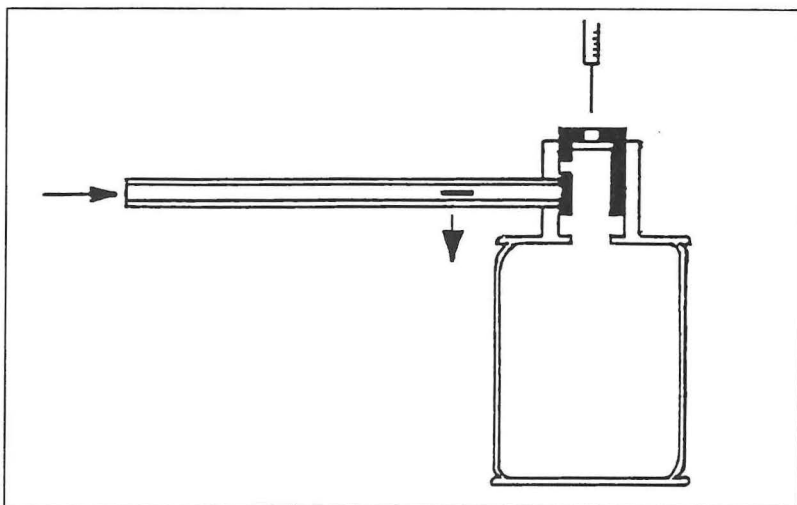


Fig. 15. Recipiente metálico con vacío parcial

flexible. Como la válvula está dotada en su parte superior de un orificio con septum es posible extraer con una jeringa de gases una alícuota para su análisis cromatográfico. El vacío parcial disminuye la posibilidad de condensaciones en el interior del recipiente tanto en el momento de tomar la muestra como en el almacenamiento.

Machata (108), describe un sistema que permite la recogida de los últimos 100 ml de una exhalación según un diseño como el representado en el esquema de la fig. 16. El procedimiento está basado en la captación, de un volumen de aire exhalado en dos etapas, en la primera mediante la commutación de la válvula (1) se recoge la última fracción del aire exhalado en el émbolo y en la segunda, previa la commutación de la válvula (2), se hace pasar ese volumen a través de un vial de vidrio herméticamente cerrado con un séptum y que previamente se ha insertado en las agujas de entrada y salida de aire. Al finalizar el paso del aire a través del vial, éste contendrá una muestra del mismo que puede ser analizada posteriormente.

Todos los procedimientos descritos en este apartado se basan en la recogida de una pequeña porción de aire procedente de una exhalación única y su análisis posterior mediante cromatografía de gases. Sin embargo, la inyección de muestra gaseosa presenta numerosos problemas debido a la poca precisión de los mismos y de la dificultad de calibración con patrones gaseosos. Por otro lado la muestra suele estar tan diluida, que la determinación puede estar por debajo del límite de detección de la técnica analítica utilizada. Sin embargo estos procedimientos son los más utilizados hasta ahora.

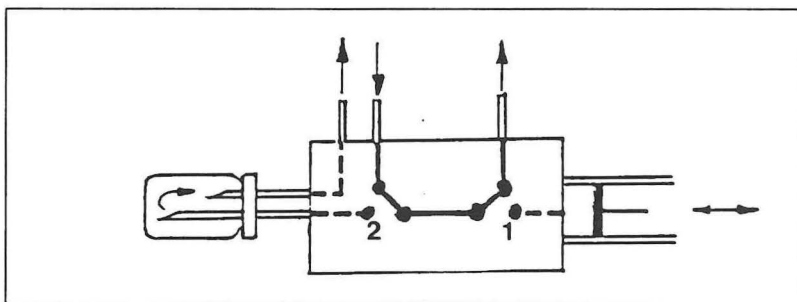


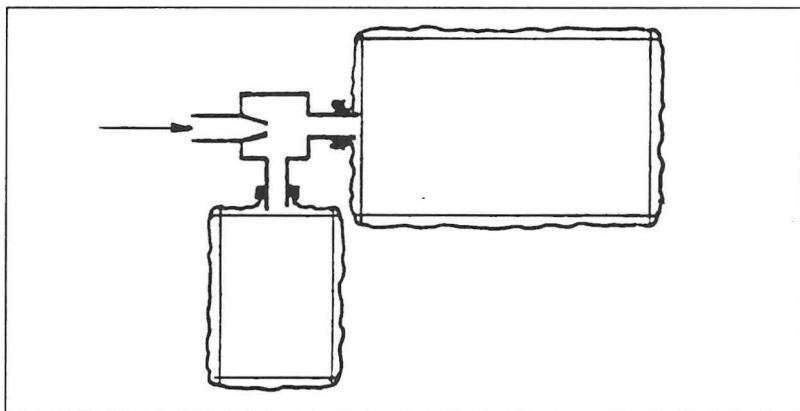
Fig. 16. Sistema para llenado de cápsulas herméticas (Tomado de Machata, 1986).

También se han descrito procedimientos de análisis basados en la lectura directa mediante tubos colorimétricos, como el descrito por Droz y cols. (109), para la determinación de hidrocarburos clorados en aire respiratorio mediante su recogida en bolsas de 1000 y 2000 ml y análisis posterior haciendo pasar el contenido de las bolsas a través de tubos detectores colorimétricos, específicos para cada compuesto.

### **Sistemas basados en la captación de un volumen de aire, concentración de la muestra y análisis**

Estos procedimientos se basan en la concentración de toda o parte de la muestra de aire exhalado final recogido en un absorbente. Se puede recoger aire en recipientes flexibles, (normalmente bolsas inertes similares a las descritas en 6.1), y hacer pasar posteriormente un volumen medido del mismo a través de un tubo adsorbente mediante la aspiración con bomba desde la bolsa.

En la fig. 17, se representa un sistema de este tipo, que además permite normalizar la captación de aire alveolar. Es un dispositivo basado en un tubo de Pitot, de tal forma que al comenzar la exhalación, el aire pasa a gran velocidad a través del estrechamiento lo que produce una presión negativa que impide el llenado de la bolsa pequeña o bolsa de recogida, éste se realiza cuando la bolsa de mayor



*Fig. 17. Sistema de captación mediante bolsas inertes*

tamaño se ha llenado, con la cual se puede calcular el volumen de aire que desecharemos antes de recoger la muestra alveolar adecuando el volumen de la bolsa mayor o bolsa de descarga. Posteriormente se extrae un volumen medido de aire de la bolsa de recogida haciéndolo pasar a través de un adsorbente y realizando su análisis previa desorción.

Cuanto mayor sea el volumen de muestra recogida, mayor será la posibilidad de analizar cuantitativamente la concentración de disolvente después de su concentración. Este volumen se puede recoger de las fracciones alveolares de exhalaciones sucesivas.

Se han descrito procedimientos que hacen pasar directamente el aire alveolar sobre el adsorbente mediante sistemas automáticos, semiautomáticos o manuales por ejemplo el descrito por Mutti y cols.(110), que recoge automáticamente los últimos 100 ml de cada exhalación durante un periodo de 5 minutos. Ello ha motivado el desarrollo de sistemas que detectan automáticamente el instante en que se inicia una nueva fase inspiratoria para determinar el final de la exhalación y recoger automáticamente la última fracción del aire exhalado (111).

Los adsorbentes más utilizados para estos fines son carbón activo o Tenax, en el primer caso la desorción se suele hacer con disolventes (usualmente sulfuro de carbono) inyectando posteriormente una alícuota de disolución en un cromatógrafo de gases. Los tubos de Tenax se desorben térmicamente en la puerta de inyección de cromatógrafo de gases, analizándose en este caso toda la muestra recogida con lo cual se aumenta extraordinariamente la capacidad de detección (112).

También se han descrito sistemas basados en el atrapamiento criogénico de los disolventes para la recogida directa de muestras de aire exhalado durante un periodo de tiempo largo. Este sistema está diseñado para concentrar disolventes orgánicos sin concentrar nitrógeno y oxígeno (100).

Tanto en la captación como en la transferencia a los adsorbentes hay que mantener el sistema a una temperatura aproximada de 40°C para evitar las condensaciones de vapor de agua y por consiguiente pérdidas por dilución de los disolventes en la fase líquida.

## Sistemas basados en el análisis directo del aire exhalado mediante técnicas instrumentales

Son numerosas las técnicas instrumentales que se han aplicado al análisis directo de los gases respiratorios, entre ellas la espectrometría infrarroja, detectores electroquímicos o detectores de fotoionización basados en una fuente ultravioleta que emite fotones con suficiente energía como para ionizar compuestos orgánicos (113). Sin embargo, bien por su falta de sensibilidad o poca selectividad, no son muy utilizados. Mayor aceptación han tenido otras técnicas instrumentales como la cromatografía de gases y espectrometría de masas.

El análisis cromatográfico directo del aire exhalado final precisa un dispositivo previo que permite inyectar la fracción alveolar como el descrito por Fernández y cols. (24), estos procedimientos presentan el inconveniente de ser poco operativos en campo.

Igualmente se han descrito procedimientos analíticos directos de aire exhalado mediante la espectrometría de masas (29, 114). En esta línea merece especial atención el sistema descrito por Wilson y Otley (30) que consiste en un espectrómetro de cuadrupolo portátil que permite tomar muestras directas de aire exhalado mediante la utilización de un tubo exterior del tipo Haldane-Priestley que posibilita el análisis en continuo de los gases respiratorios ya que estos son bombeados a un circuito desde el cual son difundidos a través de una membrana de silicona a la zona de vacío del espectrómetro de masas.

La rapidez de respuesta del sistema permite realizar muestreos consecutivos que reproduzcan, en tiempo real, el perfil de concentración de un disolvente exhalación a exhalación, con límites de detección entre 0,02 y 0,1 mg/m<sup>3</sup> para nueve disolventes estudiados. Este sistema permite realizar un seguimiento de la eliminación de 1,1,1-Tricloroetano en aire alveolar durante 168 horas después de finalizar una exposición a 750 mg/m<sup>3</sup> durante ocho horas. Sin embargo este instrumental presenta el inconveniente de su elevado costo y escasa operatividad en campo.

En general, hay una amplia variedad de procedimientos para la captación y análisis de aire exhalado, pero hay que tener presentes las ventajas e inconvenientes de cada uno de ellos, tratando de armonizar cuestiones tan dispares como límite de detección operatividad en

campo y precio, todo ello cumpliendo además el requisito básico de captación de muestras repetitivas de aire exhalado final.

En este sentido, en el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, se ha diseñado y realizado un sistema de captación de aire exhalado cuya validación y aplicación se realizó en colaboración con la Universidad de Murcia (115), sus características más significativas son las siguientes:

Permite recoger muestras repetitivas de aire exhalado final procedente de una o varias exhalaciones sucesivas, de forma semiautomática.

Permite concentrar simultáneamente en un adsorbente sólido los vapores orgánicos contenidos en el volumen medido de aire exhalado recogido.

Es posible ajustar un volumen de captación variable, en función de la concentración de la muestra y las condiciones de muestreo.

Su facilidad de transporte y bajo costo, lo hace muy operativo en campo.

El prototipo diseñado para la captación de aire exhalado está constituido por un tubo de Haldane-Priestley modificado para poder concentrar alícuotas de aire exhalado procedente de una o varias exhalaciones.

Tal como se describe en la Fig. 18, 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 posición de la válvula de tres vías.

-Tubo de aluminio de 1 m de longitud y 26 mm de diámetro, conectado a una boquilla para poder insertar un tubo de cartón desechable, y con una válvula que se abre al exhalar aire a través del sistema y se cierra al finalizar ésta. El tubo está calorifugado y recubierto por una camisa aislante de 15 mm de espesor que permite mantener en el interior de él una temperatura de 40°-45°.

-Válvula de tres vías conectadas a:

1. Extremo del tubo de Haldane-Priestley donde está colocada la boquilla (aproximadamente a 5 cm de la misma).

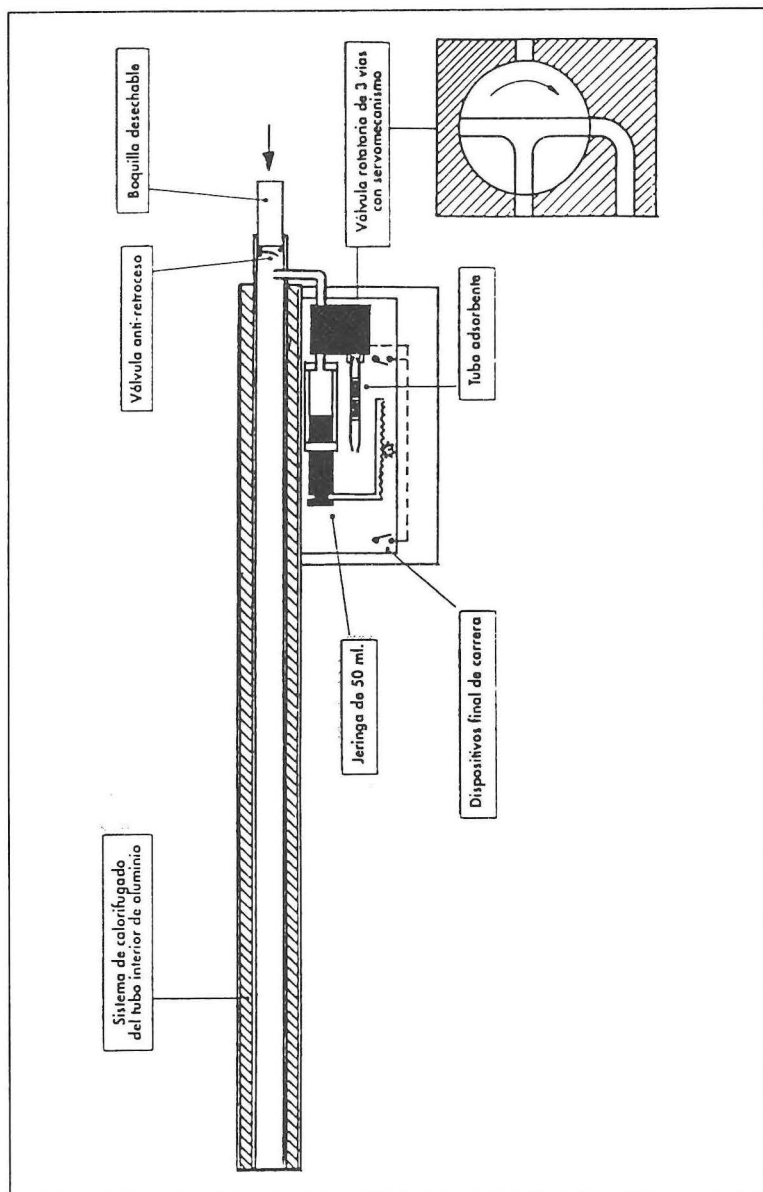


Fig. 18. Esquema del sistema de captación de aire exhalado

2. Jeringa de gases de 50 ml instalada en un sistema de cremallera que permite el llenado y vaciado automático de la misma.

3. Tubo adsorbente

-Mecanismo de control de la válvula de tres vías, según se detalla en la Fig.19, que permite abrir las vías 1 y 2 durante la etapa de aspiración de aire exhalado desde el tubo de Haldane-Priestley, manteniendo la vía 3 cerrada. En la segunda etapa mantiene abiertas las vías 2 y 3 para hacer pasar el aire exhalado aspirado en la etapa anterior a través del tubo adsorbente, manteniendo cerrada la vía 1.

-Motor eléctrico y reductora que mueve la cremallera a la que está conectada la jeringa. Está dotado de un inversor de giro que permite aspirar aire del tubo de Haldane-Priestley o impulsarlo para hacer pasar este aire a través del absorbente.

-Dispositivos de "final de carrera" que automáticamente invierten el giro del motor al finalizar el recorrido de la cremallera gobernando, simultáneamente, el control de la posición de la válvula de tres vías.

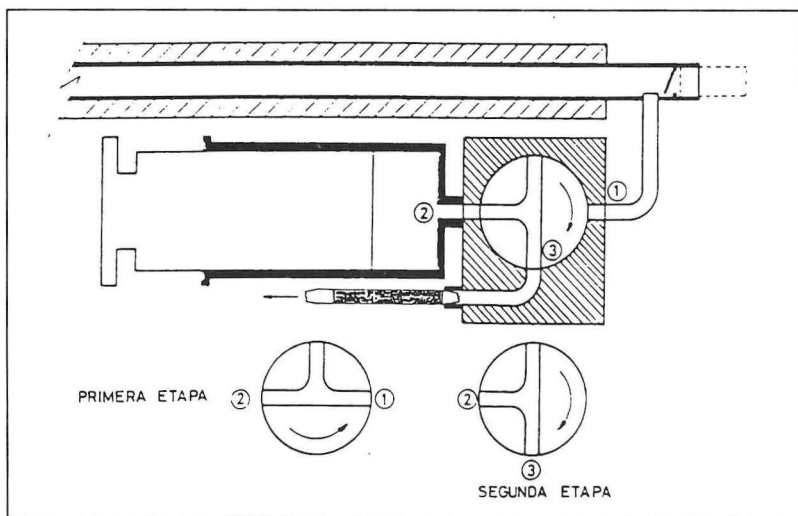


Fig. 19. Esquema de funcionamiento de la válvula de tres vías



- Contador de carreras para poder contabilizar el número de repeticiones del proceso completo de aspiración/impulsión.
- Mando a distancia que permite repetir la secuencia de aspiración-adsorción automáticamente o paso a paso.

Según los resultados obtenidos en las pruebas de validación llevadas a cabo en atmósfera controlada, este sistema ofrece la posibilidad de tomar volúmenes de aire en el intervalo de 100 a 300 ml por exhalación, sin diferencias significativas y sin que tampoco la determinación esté afectada por la elevada humedad relativa del aire recogido, lo que hace homologable este sistema con los basados en la captación directa de aire exhalado en ampollas de vidrio puesto que la fracción recogida con el sistema descrito también es la más representativa de la alveolar.

Sin embargo este sistema de captación ofrece la ventaja, sobre la mayoría de los descritos en la bibliografía, de recoger la muestra en un adsorbente sólido lo que ofrece una doble ventaja, por un lado la concentración de la misma durante la captación y en segundo lugar la seguridad de su transporte y almacenamiento, ya que la estabilidad de las muestras recogidas es prácticamente total durante un periodo de 15 días, sin ningún acondicionamiento especial.

También se han llevado a cabo ensayos en personas expuestas voluntariamente y las experiencias de repetitividad, para muestras consecutivas de n-hexano y tolueno en aire exhalado tomadas a 1 hora y 5 horas antes de finalizar la exposición, presentan una dispersión inferior al 18%. Por otro lado, el análisis estadístico efectuado a las determinaciones realizadas, tomando dos muestras consecutivas a trabajadores expuestos, indica que no existen diferencias significativas entre ellas.

Ambas experiencias demuestran que las muestras consecutivas de aire exhalado son lo suficientemente repetitivas como para poder tomar el valor medio de las mismas durante un periodo discreto de tiempo.

El sistema descrito, permite recoger muestras repetidas de la misma exhalación o de exhalaciones sucesivas que se pueden recoger en el mismo lecho adsorbente, lo que conduce a muestras cada vez mas concentradas. Este hecho se pone de manifiesto al observar que

prácticamente no existen diferencias entre los resultados obtenidos al tomar muestras de aire exhalado a un mismo individuo, haciendo pasar un volumen de 300 ml de aire exhalado por el tubo adsorbente procedente de una única exhalación o haciendo pasar el mismo volumen de aire exhalado pero procedente de 6 exhalaciones consecutivas, tomando 50 ml de cada una.

Tampoco hay diferencias apreciables entre los procedimientos descritos y el que consiste en hacer pasar un volumen total de 600 ml, procedente de 12 exhalaciones sucesivas, tomando 50 ml de cada una.

Este sistema de captación permite enriquecer la muestra recogida en el tubo adsorbente hasta alcanzar la cantidad que precise el método analítico, por ello, el límite de detección global del sistema es variable. Aunque las concentraciones mas bajas analizadas en los sujetos estudiados han sido  $0,45 \text{ mg/m}^3$  de n-hexano y  $1,11 \text{ mg/m}^3$  para Tolueno. Estos valores son similares a los fijados por Wilson y Ottley (30), utilizando un espectrómetro de masas ( $0,06 \text{ mg/m}^3$  para n-hexano y  $0,02 \text{ mg/m}^3$  para Tolueno).

Teniendo en cuenta que las concentraciones halladas por Krotoszinsky (116) para tolueno en el aire exhalado de personas sanas, no fumadores, habitantes de zonas urbanas, oscilan entre 0,004 y  $0,017 \text{ mg/m}^3$ , y que Foo y cols. (117), obtienen para el mismo compuesto en personas no expuestas, concentraciones que oscilan entre 0,02 y  $0,09 \text{ mg/m}^3$ , el límite de detección del procedimiento estudiado se considera suficiente.

No obstante, el sistema permite la utilización de tubos de captación, rellenos de adsorbentes capaces de ser analizados mediante desorción térmica, lo cual puede aumentar notablemente la cantidad de analito a determinar ya que en este caso se realizaría un análisis completo de toda la muestra absorbida.



## BIBLIOGRAFIA

1. KROTOSZYNSKI B., GABIEL G., O'NEILL H.  
**Characterization of human expired air a promising investigative and diagnostic technique.**  
*Journal of Chromatography Science* 15, 232-244, 1977.
2. MANOLIS A.  
**The diagnostic potential of breath analysis**  
*Clin. Chem.* 29, 5-15, 1983.
3. CROFFORD O.B., MALLARD R.D., WINTON R.E., ROGERS, N.L. et al.  
**Acetone in breath and blood**  
*Trans. Am. Clin. climatol. Assoc.* 88, 128-129, 1977.
4. ROOT G., OSTENSON S.  
**Acetone in alveolar air and the control of diabetes**  
*Lancet* 1102-1105, 1966
5. BARNETT D., TASSOPOULOS C.N., FRASER T.R.  
**Breath acetone and blood sugar measurements in diabetes**  
*Clin. Sci.* 37, 570, 1969
6. SIMENHOFF M.L., BURKE J.F., SAUKKOMEN J.J., ORDINARIO A.T.  
**Biodremical profile of uremic breath**  
*N.Engl. J.Med.* 297, 132-135, 1977
7. HAINES A., METZ G., DILAVARI J., BLENDIS L., WIGGINS H.  
**Breath Methane in patients with cancer of large bowel**  
*Lancet*, Sept.3, 481-483, 1977
8. FRANK H., DURCK H.  
**Determination of Alkanes in Breath to Monitor lipid peroxidation in the presence of volatiles toxicants and metabolites**  
*Archives of Toxicology*, 53, 213-223, 1983
9. MOSCARELLA S., LAFFIN G., BUZZELLIN G., MAZZAMTI R., CARAMELLI L., GENTILINI P.  
**Expired hydrocarbons in Patients with chronic liver disease**  
*Hepato-Gastroenterol* 32, 60-63, 1984
10. KOLSTEC J.G., PRETI G., ZELSON P.R., STOLLER N.J., TONCETICH J.  
**Salivary volatiles as indicators of periodontitis**  
*Journal of Periodontal Research* 15, 185-192, 1980

11. GORDON S.M., SZIDON J.P., KROTOSZYNSKY B.N., GIBBONS R.D.  
Volatile Organic compounds in exhaled air from patients with lung cancer.  
*Clin. Chem.* 31, 1278-1282, 1985
12. CORBETT T.H., BALL G.W.  
Respiratory excretion of halothane after clinical and occupational exposure  
*Anesthesiology* 39, 340-345, 1973
13. CORBETT T.H., BALL G.W.  
Chronic exposure to methoxyfluorane. A possible occupational hazard to anesthesiologists  
*Anesthesiology* 34, 532-537, 1971
14. PATTY'S INDUSTRIAL HYGIENE AND TOXICOLOGY  
Vol 3b Theory and rationale of industrial hygiene practice: Biological response  
Wiley-Interscience publication 1985
15. DROZ P.O., FERNANDEZ J.G.  
Effect of physical workload on retention and metabolism of inhaled organic solvents. A comparative theoretical approach and its application with regards to exposure monitoring.  
*Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 38, 231-246, 1977
16. VEULEMANS H., MASSCHELEIN R.  
Experimental human exposure to Toluene I. Factors influencing the individual respiratory uptake and elimination  
*Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 42, 91-103, 1978
17. MONEY C.D., GRAY C.N.  
Exhaled breath analysis as a measure of workplace exposure to benzene ppm.  
*Ann. Occup. Hyg.* 33, 257-262, 1989
18. NOMIYAMA H.,  
Respiratory retention, uptake and excretion of organic solvents in air.  
*Int. Arch. Arbeitnmed* 32, 75-83, 1974
19. WILSON H.K.  
Physiological basis and sampling techniques  
*Scand. J. Work. Environ. Health* 12, 174-192, 1986.
20. BEST Y TAYLOR  
Bases fisiológicas de la práctica médica  
10ª Edición, Editorial Panamericana, 1982

21. KELMAN G.R.  
Theoretical basis of alveolar sampling  
*British Journal of Industrial Medicine*, 39, 259-264, 1982
22. WEST J.B., DOLLERY C.T.  
Distribution of blood flow and ventilation perfusion ratio in the lung measured with radioactive CO<sub>2</sub>  
*J. Appl. Physiol.* 15, 405-410, 1960
23. GUBERAN E., FERNANDEZ J.  
Control of industrial exposure to tetrachloroethylene by measuring alveolar concentrations; theoretical approach using a mathematical model  
*British Journal of Industrial Medicine*, 31, 159-167, 1974.
24. FERNANDEZ J., GUBERAN E., CAPEROS J.  
Experimental human exposure to tetrachloroethylene vapour and elimination in breath after inhalation.  
*Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 37, 143 - 150, 1976
25. FERNANDEZ J., DROZ P.O., HUMBERT B.  
Trichloroethylene exposure simulation of uptake; excretion, and metabolism using mathematical model.  
*British Journal of Industrial Medicine*, 34, 43-55, 1977.
26. CAPEROS J.R.  
1-1-1 Trichloroethane Exposure, Biologic Monitoring by Breath and Urine Analysis  
*Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 49, 293-303, 1982
27. FISEROVA-BERGEROVA V., VLACH J., SINGHAL K.  
Simulation and prediction of uptake, distribution and exhalation of organic solvents  
*British Journal of Industrial Med.* 31, 45-52, 1974
28. PERBELLINI L., MOZZO P., BRUGNONE F., ZEDDE A  
Physiological mathematical model for studying human exposure to organic solvents: Kinetics of blood/tissue n-Hexane concentrations and 2-5 hexanodione in urine.  
*British Journal of Industrial Medicine*, 43, 760-768, 1986
29. LOVETT A.M., REID, M.M., BUCKLEY J.A., FRENCH J.B., CAMERON D.  
Real Time Analysis of Breath using an Atmospheric Pressure Ionization Mass Spectrometer  
*Biomed. Mass. Spectrometry* 6, 91-97, 1979

30. WILSON H.K., OTTLEY T.V.  
**The Use of Transportable Mass Spectrometer for the Direct Measurement of Industrial solvents in air**  
*Biomed. Mass. Spectrometry* 8, 606-610, 1981
31. BRUGNONE F., PERBELLINI L., GAFFURI E., APOSTOLI P.  
**Blomonitoring of Industrial Solvent Exposure In Worker's Alveolar Air**  
*Int. Arch. Occup. Environ. Health* 47, 245-261, 1980
32. PERBELLINI L., BRUGNONE F.  
**Lung Uptake and metabolism of cyclohexane in shoe Factory Workers**  
*Int. Arch. Occup. Environ. Health* 45, 261-269, 1980
33. BRUGNONE F., PERBELLINI L., FACCINI G.R., PASINI F., BATOLUCCI G.B., DE ROSA E.  
**Ethylene oxide exposure biological monitoring by analysis of alveolar air and blood.**  
*Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 58, 105-112, 1986
34. TRIEBIG G., BURKHARDT K.  
**Arbeitsmedizinische Untersuchungen bei beruflich Belastung mit dem Halogen-Kohlenwasserstoff 1,1,2-Trichlor-1,2,2,-Trifluorathan**  
*Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 42, 129-135, 1978
35. PERBELLINI L., BRUGNONE F., GRIGOLI L., CUNEGATTI P., TACCONI A.  
**Alveolar Air and Blood Dichloromethane Concentration in Shoe Sole Factory Workers.**  
*Int. Arch. Occup. Environ. Health*. 40, 241-247, 1977
36. PFAFFLI P., NIKKI P., AHLMAN K.  
**Halothane and Nitrous oxide in End-Tidal air and venous blood of surgical personnel.**  
*Annals of Clinical Research* 4, 273-277, 1972
37. MONSTER A.C., ZIELHUIS R.L.  
**Human Biological monitoring of industrial chemical series. Chlorinated Hydrocarbon solvents.**  
*Commission of European Communities. EUR. 8476 EN 1983.*
38. BEI'S TRANSACTIONS  
*Ann. Am. Conf. Ind. Hyg. Vol. II, 103-133, 1984*
39. STEWART R.D., GAY H.H., HERLEY D.S. HAKE C.L., SCHAFER A.W.  
**Human exposure to 1-1-1-trichloroethane vapor: Relationship of expired air and blood concentrations to exposure and toxicity**  
*Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 22, 252, 1961.

40. STEWART R.D., GAY H.H., SHAFFER A.W., ERLEY D.S., ROWE V.K.  
**Experimental human exposure to metil chloroform vapor**  
*Arch. Environ. Health.* 19, 467, 1969
41. STEWART R.D., HAKE C.L., WU A., GRAFF S.A., FOSTER H.V., LEBRUN A.J., NEWTON P.E., SOTO R.J.  
**1-1-1-Trichloroethane: Development of a biologic standard for the industrial worker by breath analysis**  
*Milwaukee, Wisconsin, Medical College of Wisconsin, 1971*
42. FUKABORI S.  
**The concentration of methylchloroform in expired air of man after exposure**  
*J. Sci. Labour* 46, 535, 1970.
43. ASTRAND I., KILBOM A., WAHLBERG I., OVRUM P.  
**Methylchloroform exposure: I. Concentration in alveolar air and blood at rest and during exercise**  
*Work. Environ. Health.* 10, 69, 1973.
44. MONSTER A.C., BOERSMA G., DUBA W.C.  
**Kinetics of 1-1-1-trichloroethane in volunteers; influence of exposure concentrations and workload**  
*Int. Arch. Occup. Environ. Health,* 42, 303, 1979
45. HUMBERT B.E., FERNANDEZ J.G.  
**Exposition au 1-1-1-Trichloroethane, contribution a l'étude de l'absorption, de l'excretion et du metabolisme sur des sujets humains.**  
*Arch. Mal. Prof.* 38, 415, 1976.
46. ROWE V.K., WUJKOWSKI T., WOLF M.A., SADEK S.E., STEWART R.D.  
**Toxicity of a solvent mixture of 1-1-1-trichloroethane and tetrachloroethylene as determined by experiments on laboratory animals and human subjects.**  
*Am. Ind. Hyg. Assoc. J.,* 24, 541, 1963.
47. AMERICAN CONFERENCE OF GOVERNMENTAL INDUSTRIAL HYGIENISTS  
**Threshold limit values and Biological exposure Indices 1990-91**  
*Cincinnati OH.1990*
48. ASTRAND I., OVRUM P.  
**Exposure to trichloroethylene: I. Uptake and distribution in man**  
*Scand J. Work Environ. Health.* 2, 199, 1976





49. NOMIYAMA K., NOMIYAMA H.  
Metabolism of Trichloroethylene in human, sex difference in urinary excretion of trichloroacetic acid and trichloroethanol  
*Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 39, 237, 1977
50. NOMIYAMA K., NOMIYAMA H.  
Dose-response relationship for trichloroethylene in man  
*Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 39, 237, 1977
51. STEWART R.D., DODD H.C., GAY H.H., ERLEY D.S.  
Experimental human exposure to trichloroethylene  
*Arch. Environ. Health*, 20, 64, 1970
52. STEWART R.D., HAKE C.L., LE BRUN A.J., PETERSON J.E., FOSTER H.V., HOSKO M.J., NEWTON P.E., SOTO R.J., DODD H.C., GRAFF S.A., DONOHOO K.K., MELLENDER J.W.  
Biological standards for the industrial workers by breath analysis: Trichloroethylene  
*Cincinnati, OH, US Dept. Health, Education, and Welfare*. 1974.
53. KIMMERLE G., EBEN A.  
Metabolism excretion and toxicology of trichloroethylene after inhalation II: Experimental human exposure  
*Arch. Toxicol.* 30, 127, 1973
54. MONSTER A.C., BOERSMA G., DUBA W.C.  
Pharmacokinetics of Trichloroethylene in volunteers. Influence of workload and exposure concentrations.  
*Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 35, 87, 1976
55. MONSTER A.C., BOERSMA G., DUBA W.C.  
Kinetics of trichloroethylene in repeated exposure of volunteers  
*Int. Arch. Occup. Environ. Health* 42, 83, 1979
56. SATO A., NAKAJIMA T.  
Differences following skin or inhalation exposure in the absorption and excretion kinetics of trichloroethylene and toluene.  
*Brit. J. Industr. Med.* 35, 43, 1978
57. MULLER G., SPASSOVSKI M., ENSCHELER D.  
Metabolism of trichloroethylene in man II. Pharmacokinetics of metabolites  
*Arch. Toxicol.* 32, 183, 1974
58. STEWART R.D., GAY H.H., HERLEY D.S., HAKE C.L., SCHAFER A.W.  
Human exposure to tetrachloroethylene vapor  
*Arch. Environ. Health*, 2, 516, 1961

59. STEWART R.D., BARETTA E.D., DODD H.C., TORKELSON T.R.  
**Experimental human exposure to tetrachloroethylene**  
*Arch. Environ. Health*, 20, 224, 1970
60. MONSTER A.C., BOERSMA G., STEENWEG H.  
**Kinetics of tetrachloroethylene in volunteers, influence of exposure concentrations and workload.**  
*Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 42, 303, 1979
61. HEKE C.L., STEWART R.D.  
**Human exposure to tetrachloroethylene, inhalation and skin contact**  
*Environm. Health. Perspect.*, 21, 231, 1977.
62. DORN R., BORN P.J.A. van., LEIJDEKKER CH.M., HENDERSON P., RE-  
UVERS J., BERGEN T.J. van.  
**Detection and identification of S-methylcysteine in urine of workers exposed to methylchloride**  
*Arch. Occup. Environ. Health*. 46, 99, 1980.
63. STEWART R.D., HAKE C.L., WU A., GRAFF S.A., FOSTER H.V. KEELER  
W.H., LE BRUN A.J., NEWTON P.E., SOTO R.J.  
**Methylchloride: Developpment of a biological standard for the industrial worker by breath analysis.**  
*Milwaukee, Wisconsin, Medical College of Wisconsin*, 1977
64. PUTZ-ANDERSON V., SETZER J.V., CEOXTON J.S., PHIPPS F.C.  
**Methylchloride and diazepam effects on performance.**  
*Scand.J.Work.Environm. Health*, 7, 8, 1981
65. STEWART R.D., FISHER T.N., HOSKA M.J., PETERSON J.E., BARETTA  
E.D., DODD H.C.  
**Experimental human exposure to methylene chloride**  
*Arch. Environm. Health*, 25, 342, 1972.
66. CARLSSON A., HULTENGREN M.  
**Exposure to methylene chloride: III Metabolism of C<sup>14</sup>-Labelled Methylene chloride in rats.**  
*Scand. J. Work.Environm. Health*.1, 104, 1975.
67. DI VICENZO G.D., KAPLAN C.J.  
**Uptake, metabolism and elimination of methylene chloride vapor by humans.**  
*Toxicol. Appl. Pharmacol.* 59, 130, 1981.
68. STEWART R.D., HAKE C.L., WU.A.  
**Use of breath analysis to monitor methylene chloride exposure.**  
*Scand. J. Work. Environm. Health*.2, 57, 1976.

69. Mc COLLISTER D.D., BEAMER W.H., ATCHINSON G.J., SPENCER H.C.  
**The absorption distribution and elimination of radiactive carbon tetrachloride by monkeys upon exposure to low vapor concentrations.**  
*J.Pharm. Exp. Ther.* 102, 112-124, 1951
70. STEWART R.D., GAY H.H., ERLEY D.S.  
**Human exposure to carbon tetrachloride vapor**  
*J.Occup. Med.* 3, 586-590, 1961
71. YLLNER S.  
**Metabolism of 1,2 dichloroethane C<sup>14</sup> in mouse.**  
*Acta Pharmacol.Toxicol.* 30, 257, 1971.
72. URUSOVA T.P.  
**About a possibility of dichloroethane absorption into milk of nursing women when contacted under industrial conditions.**  
*Gig. I. Saint* 18, 36, 1953.
73. LAUWERYS R.  
**Human biological monitoring of industrial chemical series. Benzene.**  
*Commission of European Communities. EUR. 8476 EN* 1983.
74. SERWOOD R.J.  
**Benzene. The interpretation of monitoring results.**  
*Ann. Occup. Hyg.* 15, 409, 1972
75. SHERWOOD R.J., CARTER F.W.G.  
**The measurement of occupational exposure to benzene vapour.**  
*Ann. Occup. Hyg.* 13, 125, 1970
76. PARKINSON G.S.  
**Benzene in motor gasoline-an investigation into possible health in and around filling stations and in normal transport operations.**  
*Ann. Occup. Hyg.* 14, 145, 1975.
77. SHERWOOD R.J.  
**Evaluation of exposure to benzene vapour the loading of petrol.**  
*Brit. J. Industr. Med.* 29, 65, 1972.
78. SHERWOOD R.J.  
**Relation of benzene metabolism to benzene toxicity.**  
Symposium on Toxicology of Benzene and alkylbenzene Industrial Health Foundation, Pittsburg (USA)
79. HUNTER C.G., BLAIR D  
**Benzene, pharmacokinetic studies in man**  
*Ann. Occup. Hyg.* 15, 193, 1972.

80. BERLIN M., HOLM P., KNUTSSON P., TUNER A.  
**Biological Threshold limits for Benzene Based on Pharmacokinetics of Inhaled Benzene in Man. Mechanism of Toxic Action on Some Target Organs.**  
*Arch. Toxicol. Suppl.2, 305-310, 1079*
81. SHERWOOD R.J.  
**The monitoring of benzene exposure by air sampling.**  
*Am.Ind.Hyg. Assoc. J., 32, 840, 1971.*
82. NEWSOME J.R., NORMAN V., KEITH C.H.  
**Vapor phase analysis of tobacco smoke**  
*Tobacco Sci, 9, 102, 1965*
83. BRUGNONE F., PERBELLINI L., FACCINI G.B. et al.  
**Breath and blood levels of benzene, toluene cumene and styrene in no occupational exposure.**  
*Int. Arch. Occup. Environ. Health, 61, 303-311, 1989*
84. ENGSTROM K., HUSMAN K., PFAFFLI P., RIIHIMAKI V.  
**Evaluation of occupational exposure to xylene by blood exhaled air and urine analysis.**  
*Scand. J. Work Environ. Health, 4, 114-121, 1978*
85. FERNANDEZ J.G., CAPEROS J.R.  
**Exposition an styrene. I Etude experimentale de l'apsortion et de l'excretion pulmonalres sur des sujets humains.**  
*Int. Arch. Occup. Environ. Health 40, 1, 1977.*
86. GUILLEMIN M.P., BAUER D.  
**Human exposure to styrene. III Elimination kinetics of Urinary Mandelic and Phenil-glioxilic Acids after single experimental exposure.**  
*Int. Arch. Occup. Environ. Health. 44, 249-263, 1979.*
87. LAUWERYS R.R.  
**Industrial Chemical Exposure: Guidelnes for Biological Monitoring**  
*Biomedical Publications Davis, California 1983*
88. STEWART R.D., DODD H.C., BARETTA E.D., SCHAFER A.V.  
**Human exposure to styrene vapor**  
*Arch. Environ. Health 16, 656, 1968*
89. ULTRAMARE M., DESBAUMES C., IMHOFF C., MICHIELS W.  
**Toxicologie du styrene monomero, recherches experimentales et cliniques chez l'homme.**  
*Ed. Med. Geneve 1974.*

90. GOTELL P., AXELSON O., LINDELOF B.  
**Field studies on human styrene retention.**  
*Ind. Med. Surg.* 34, 620, 1965.
91. GUILLEMIN M.P., BERODE M.  
**Biological Monitoring of Styrene: A Review**  
*Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 49, 497-505, 1988
92. PERBELLINI L., MOZZO P., TURRI P.V., ZEDDE A., BRUGNONE F.  
**Biological exposure index of styrene suggested by a physiologico-mathematical model.**  
*Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 60, 187-193, 1988
93. RAMSEY D.C., YOUNG J.D., KARIBOWSKI R.J. et al.  
**Pharmacokinetics of inhaled styrene in human volunteers**  
*Toxicol. Appl. Pharmacol.* 53, 54-63, 1980
94. AMERICAN CONFERENCE OF GOVERNMENTAL INDUSTRIAL HYGIENIST  
**BEI'S Documentation for styrene**  
*Ann. Am. Conf. Ind. Hyg.* vol. II, 113-118, 1984.
95. WIGAEUS E., HOLM S., ASTRAND I.  
**Exposure acetone. Uptake and elimination in man.**  
*Scand. J. Work. Environ. Health* 7, 84-94, 1981
96. GROSENEKEN D., VEULEMANS H., MASSCHELEIN R.  
**Respiratory uptake and elimination of ethylene glycol monoethyl ether after experimental human exposure.**  
*British Journal of Industrial Medicine* 43, 544-549, 1986
97. STEWART R.D., BARETTA E.D., DODD H.C., TORKELSON T.R.  
**Experimental human exposure to vapor of propylene glycol monomethyl ether.**  
*Arch. Environm. Health* 20, 218, 1970.
98. VERBERK M.M., SCHEFFERS T.M.  
**Tetrachloroethylene in Exhaled air of residents near Dry-Cleaning Shops**  
*Environmental Research* 21, 432-437, 1980
99. MAXIMUM CONCENTRATIONS AT THE WORKPLACE AND BIOLOGICAL TOLERANCE VALUES FOR WORKING MATERIALS  
**Deutsche Forschungsgemeinschaft. Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the work Area.**  
*Report n° XXV* 1989

100. GARRIOT J.C. et al.  
**Measurement of Toluene in Blood and Breath in Cases of Solvent Abuse.**  
*Clinical Toxicology* 18, 271-278, 1982
101. SHELDON L. et al.  
**Biological monitoring techniques for human exposure to industrial chemicals**  
*Park Ridge. NJ. Noyes Publications XX-380, 1986*
102. PERIAGO J.F.  
**Valoración de la exposición a disolventes orgánicos mediante su determinación en aire exhalado.**  
*Generalitat Valenciana. Seguretat i Higiene en el Treball, nº 4, 175-193, 1984.*
103. MONSTER A.C., BOERSMA G.  
**Simultaneous Determination of Trichloroethylene and Metabolites in Blood and Exhaled Air by Gas Chromatography**  
*Int. Arch. Occup. Environm. Health* 35, 155-163, 1975
104. MORGAN M.S., LITZINGER M.H., CORDTS S.T.  
**Design and Laboratory Evaluation of a Breath Sampling Respirator for organic solvent Biological Monitoring**  
*Appl. Ind. Hyg.* 3, 41-46. 1988.
105. GLASER R.A., ARNOLD J.E., SHULMAN S.A.  
**Direct sampling of organic solvents in expired breath with a new solid sorbent sampling device**  
*Scand. J. Work. Environm. Health.* 14, Suppl. 63-65, 1988.
106. GLASER R.A., ARNOLD J.E., SHULMAN S.A.  
**Comparison of Three Sampling and Analytical Method for Measuring m-Xylene in Expired air of Exposed Humans.**  
*Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 51, 139-150, 1990.
107. IMBRIANI M., GHITTORI S., PEZZAGNO G., CAPODAGLIO E.  
**Valutazione di un nuovo campionatore di aria alveolare.**  
*G. Ital. Med. Lav.* 4, 271-278, 1982.
108. MACHATA von G.  
**Atemluft als biologisches Untersuchungsmaterial**  
*Arbeitsmed. Sozialmed. Präventivmed.* 21, 5-7, 1986
109. DROZ P.O., KREES Y., NICOLE C., GUILLEMIN M.  
**A Direct Reading Method for Chlorinated Hydrocarbons in Breath.**  
*Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 49, 319-324, 1988

110. MUTTI A., FALZOI S., LUCERTINI S. et al.  
**n-Hexane Metabolism in occupationally exposed workers**  
*Br. J. Ind. Med.* 41, 533-538, 1984
111. JOURNEE H.L., Van den MERR J.J.  
**Optical en-tidal air-point detector built in a nonrebreathing valve**  
*Med. and Biol. Eng. Comput.* 24, 287-288, 1984
112. GEARHART H.L., PIERCE S.K., PAYNE-BOSE D.  
**A sampling Technique for Organic Components in Human Breath**  
*J. Chromatogr. Sci.* 15, 480-484, 1977
113. MOLHAVE L., PEDERSON O.F.  
**Measurements of alveolar concentrations of toluene.**  
*Int. Arch. Occup. environ. Health* 54, 65-71, 1984.
114. BENOLT F.M., DAVIDSON V.R., LOVETT A.M. et al.  
**Breath Analysis by Atmospheric Pressure Ionization Spectrometry**  
*Anal. Chem.* 55, 805-807, 1983.
115. PERIAGO J.F.  
**Desarrollo de una técnica de muestreo para disolventes orgánicos en aire exhalado, estudio con voluntarios y trabajadores expuestos para su aplicación en Salud Laboral.**  
*Universidad de Murcia.* 1990.
116. KROTOSYNSKI, B.K., BRUNEAU, G.M., O'NEILL H.K.  
**Measurement of chemical Inhalation exposure in urban population in the presence of endogenous effluents.**  
*J. Anal. Toxicol.* 3, 225-234, 1979
117. FCO S.C., PHCOM W.O., KHO N.Y.  
**Toluene blood after exposure to toluene**  
*Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 49, 255-258, 1988



**MINISTERIO DE TRABAJO Y SEGURIDAD SOCIAL**  
**INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD E HIGIENE**  
**EN EL TRABAJO**