

DETERMINACIÓN DE ALCOHOL ETÍLICO EN AIRE - MÉTODO DE ADSORCIÓN EN CARBÓN / CROMATOGRFÍA DE GASES

MTA / MA – 064/A07



MINISTERIO
DE TRABAJO
E INMIGRACIÓN



INSTITUTO NACIONAL
DE SEGURIDAD E HIGIENE
EN EL TRABAJO

Organismos participantes en el Programa Nacional de Normalización de Métodos de Toma de Muestra y Análisis:

- Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo
 - Centro Nacional de Condiciones de Trabajo - Barcelona
 - Centro Nacional de Medios de Protección - Sevilla
 - Centro Nacional de Nuevas Tecnologías - Madrid
 - Centro Nacional de Verificación de Maquinaria - Vizcaya
- Gabinete de Seguridad e Higiene de Zaragoza - CA Aragón
- Instituto de Seguridad y Salud Laboral de la Región de Murcia - CA Murcia
- Centro de Seguridad y Salud en el Trabajo de Santander - CA Cantabria
- Instituto Asturiano de Prevención de Riesgos Laborales - CA Asturias

Coordinación:

Centro Nacional de Verificación de Maquinaria - Vizcaya

Edita:

Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo
C/ Torrelaguna, 73 - 28027 MADRID



DETERMINACIÓN DE ALCOHOL ETÍLICO EN AIRE - MÉTODO DE ADSORCIÓN EN CARBÓN / CROMATOGRAFÍA DE GASES

Palabras clave: alcoholes, alcohol etílico, aire, cromatografía de gases.

1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Se describe en este método el procedimiento a seguir y el equipo necesario para la determinación de concentraciones de vapores en aire de alcohol etílico (etanol) presentes en los lugares de trabajo, mediante la captación en un tubo conteniendo como adsorbente el carbón sintético denominado anasorb 747 y análisis por cromatografía de gases.

El método se ha validado en un intervalo de concentración de 190 mg/m³ a 3700 mg/m³ siguiendo los criterios indicados en el protocolo de validación del INSHT (10.2.) y de acuerdo con lo recogido en la normativa europea sobre la materia.

Los límites inferior y superior de este intervalo corresponden aproximadamente a la décima parte y al doble del valor límite ambiental de exposición diaria (VLA - ED) (10.3.) para muestras de 2 litros de aire captadas a un caudal 0,05 l/min. Los datos de la validación se incluyen en el anexo A.

Este método también se podría utilizar en un intervalo de concentraciones más amplio que el indicado anteriormente. En cualquier caso, el límite superior del intervalo útil depende de la capacidad de adsorción del anasorb 747 utilizado, que se establece en función del volumen de ruptura (véase el capítulo 2 y el apartado A.1 del anexo A). El límite inferior depende de una serie de factores tales como blancos de muestra y reactivos, eficacia de desorción y nivel de ruido del detector.

El método podría ser aplicable, igualmente, a otros alcoholes dado el buen comportamiento que presentan en general estos compuestos con el adsorbente utilizado.

Se considera interferencia cualquier otro compuesto orgánico, que presente el mismo o próximo tiempo de retención que el compuesto a analizar, en las condiciones de operación descritas en este método. Estas interferencias pueden minimizarse seleccionando las condiciones y columnas cromatográficas adecuadas.

Este método de toma de muestra y análisis se ha desarrollado para determinar concentraciones medias ponderadas en el tiempo de alcohol etílico en aire en tomas de muestra personales y en lugares fijos, y puede ser utilizado para realizar mediciones para comparar con los valores límite y mediciones periódicas (UNE - EN 482) (10.1.).

2. DEFINICIONES

2.1. Volumen de ruptura

Es el volumen de aire contaminado que puede pasar-se a través de la primera sección del tubo de muestreo, antes de que la concentración de contaminante en el aire eluyente alcance el 5% de la concentración de entrada (10.2.).

2.2. Sesgo

Es la desviación o diferencia de los resultados obtenidos aplicando un procedimiento de medida con respecto al valor aceptado como referencia (10.2.).

2.3. Precisión

Es el grado de concordancia entre los resultados obtenidos aplicando el método repetidas veces bajo condiciones determinadas (10.2.).

2.4. Eficacia de desorción

Es la relación entre la masa de analito medida en la muestra y la masa de analito aplicada en la muestra (10.2.).

2.5. Incertidumbre global

Es una cantidad que combina el sesgo y la precisión, y que se utiliza para caracterizar, como un todo, la incertidumbre del resultado dado por un procedimiento de medida (10.1.).

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Las muestras se obtienen haciendo pasar, con la ayuda de una bomba de muestreo personal, un volumen de 2 litros de aire a través de un tubo relleno de anasorb 747, quedando los vapores adsorbidos sobre el carbón.

Los alcoholes se desorben con 1 ml de una mezcla binaria de N,N-dimetilformamida y sulfuro de carbono (60 ml + 40 ml). La disolución resultante se analiza en un cromatógrafo de gases equipado con detector de ionización de llama. A partir de la masa del alcohol en la muestra y del volumen de aire muestreado se obtiene la concentración del contaminante en el ambiente.

4. REACTIVOS Y PRODUCTOS

4.1. Gases

4.1.1. Hidrógeno purificado.

4.1.2. Aire sintético puro.

4.1.3. Helio

4.2. Reactivos

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

4.2.1. Alcohol etílico (Etanol) [C₂H₆O] N°CAS-64-17-5.

NOTA: SUSTANCIA FÁCILMENTE INFLAMABLE. Frases (R) 11. Frases (S) (2) 7-16. Real Decreto 363/1995 (10.4.).

4.2.2. N,N-Dimetilformamida [C₃H₇ON] N°CAS-68-12-2.

NOTA: SUSTANCIA TÓXICA. Frases (R) 61-20/21-36. Frases (S) 53-45. Real Decreto 363/1995 (10.4.).

4.2.3. Sulfuro de Carbono [S₂C] N°CAS 75-15-0.

Debe estar exento de compuestos que coeluyan con los analitos de interés.

NOTA: SUSTANCIA FÁCILMENTE INFLAMABLE Y TÓXICA. Frases (R) 11-36/38-48/23-62-63. Frases (S) 16-33-36/37-45. Real Decreto 363/1995 (10.4.).

4.2.4. n-Propilbenceno (patrón interno) [C₆H₅-C₂H₅] N°Cas-100-41-4.

NOTA: SUSTANCIA IRRITANTE. Frases (R) 10-37. Real Decreto 363/1995 (10.4.).

4.3. Disoluciones

4.3.1. **Disolución de desorción.** Es una mezcla de N,N-dimetilformamida y sulfuro de carbono (60 ml + 40 ml) conteniendo n-propilbenceno como estándar interno en una cantidad de 1 µl de estándar interno por mililitro de disolución.

4.3.2. Disoluciones patrón

4.3.2.1. Disoluciones para la determinación de la eficacia de desorción

4.3.2.1.1. **Disolución primaria (A).** Se prepara pesando 0,1 ml de alcohol etílico y 0,9 ml de disolución de desorción (4.3.1.) con una balanza de precisión (5.2.7.). La concentración de esta disolución es de 0,0794 mg/µl de alcohol etílico.

4.3.2.2. Disoluciones para la calibración

4.3.2.2.1. La misma disolución primaria (A) descrita en el apartado 4.3.2.1.

4.3.2.2.2. **Disoluciones patrón para la calibración en un intervalo de 0,1 VL a 2 VL.** Se preparan disoluciones patrón cuya concentración cubra este intervalo de aplicación del método, de 0,15 mg/ml a 8 mg/ml de alcohol etílico. Para la validación del método se han preparado 11 disoluciones adicionando 2; 3; 4; 6 y 8 µl de la disolución primaria (A) (4.3.2.1.1.) y 1; 2; 4; 6; 8 y 10 µl de alcohol etílico a viales que contienen 1 ml de disolución de desorción (4.3.1.).

El procedimiento de preparación utilizado es el siguiente: se pesa un vial vacío (5.2.4.), se le adiciona 1 ml de la disolución de desorción (4.3.1.) y se vuelve a pesar. A continuación se le adicionan 2 µl de disolución primaria (A) y se pesa de nuevo. La concentración de esta disolución patrón será de 0,158 mg de alcohol etílico por ml de disolución de desorción.

NOTA: Todas las disoluciones han sido preparadas llevando a cabo un control gravimétrico (con balanza de precisión) de las mediciones volumétricas. Este control gravimétrico mejora la calibración y por ende la calidad de los resultados analíticos. Alternativamente, las disoluciones pueden ser preparadas utilizando únicamente microjeringas y material volumétrico calibrado.

5. APARATOS Y MATERIAL

5.1. Aparatos y material para la toma de muestra

5.1.1. **Bomba de muestreo.** Se requiere una bomba tipo G, capaz de mantener un funcionamiento continuado durante todo el tiempo de muestreo. El caudal de la bomba ha de mantenerse constante dentro de un intervalo ± 5%. La bomba cumplirá los requisitos recogidos en UNE-EN 1232 (10.5.) (10.11.).

Para conectar la bomba y el tubo de carbón se utilizará un tubo de goma o plástico de longitud y diámetro adecuado, a fin de evitar estrangulamientos y fugas en las conexiones.

5.1.2. **Medidor de caudal externo,** para la calibración de la bomba de muestreo, calibrado frente a un patrón

primario (trazable a patrones nacionales o internacionales). Es recomendable la utilización de un medidor de caudal de burbuja ya que sus lecturas son independientes de la temperatura y la presión atmosférica (CEN/TR 15230) (10.9.).

5.1.3. Tubos de muestreo. Se utilizarán tubos de vidrio con los dos extremos cerrados a la llama, de 7 cm de longitud, 6 mm de diámetro externo y 4 mm de diámetro interno, conteniendo dos secciones de anasorb 747 separadas por una porción de espuma de poliuretano de 2 mm. La primera sección contiene 140 mg de anasorb 747 20/40 mallas y la segunda 70 mg. Entre el extremo de salida del tubo y la segunda sección se coloca una porción de 3 mm de espuma de poliuretano. Delante de la primera sección se coloca un tapón de lana de vidrio silanizada.

Los tubos deberán disponer de tapones de polietileno que ajusten bien, para prevenir fugas durante el transporte y almacenamiento de las muestras.

5.2. Aparatos y material para el análisis

5.2.1. Cromatógrafo de gases HP 6890N equipado con inyector automático HP 7863 y detector de ionización de llama.

5.2.2. Columna cromatográfica de sílice fundida de 25 m de longitud y 0,2 mm de diámetro interno de FFAP.

5.2.3. Sistema informático de tratamiento de datos

5.2.4. Viales de boca ancha, de 2 ml de capacidad, con tapones de sellado de aluminio y junta de politetrafluoroetileno.

5.2.5. Pipetas y material volumétrico de precisión para la preparación de disoluciones primarias. Se utiliza una pipeta de 1 ml para dispensar la disolución de desorción.

5.2.6. Microjeringas de precisión para la preparación de las disoluciones patrón para la calibración.

5.2.7. Balanza calibrada, para la preparación de los patrones de calibración y capaz de discriminar $\pm 0,005$ mg en el intervalo de 0-10 mg.

6. TOMA DE MUESTRA

Se calibra la bomba con un medidor de caudal, en condiciones representativas de la toma de muestra real, conectada a un tubo del mismo lote que los utilizados en el muestreo (UNE - EN 1232) (10.5.). De acuerdo con los resultados obtenidos en el ensayo para la determinación del volumen de ruptura (véase el apartado A.1 del anexo A), el caudal de muestreo se ajustará a 50 ml/min, recomendándose un volumen de muestreo de 2 litros.

6.1. Se rompen los dos extremos del tubo de anasorb 747 justo antes de comenzar la toma de muestra. Se conecta la bomba al tubo de muestreo con un tubo de

goma o plástico de tal forma que la sección menor del tubo (segunda sección) sea la más próxima a la bomba. Se debe evitar toda conexión anterior a la entrada del tubo de muestreo, a fin de prevenir posibles adsorciones de contaminantes en la misma, que conlleven a errores en las determinaciones.

6.2. Se coloca verticalmente el tubo de muestreo en la zona de respiración del trabajador (por ejemplo, sujeto a la solapa). La bomba de muestreo se sujeta en el cinturón del trabajador o en su bolsillo. En el caso de muestras en puntos fijos (5.2.2 de UNE - EN 689) (10.6.) debe elegirse un lugar de muestreo adecuado.

6.3. Se pone en marcha la bomba para comenzar la toma de muestra y se anotan el caudal, la hora de comienzo y, si fuera necesario la temperatura y la presión atmosférica del aire.

6.4. Finalizada la toma de muestra se anota el tiempo transcurrido. Se desconecta la bomba, se retiran los tubos de muestreo y se cierran los extremos con los tapones de polietileno, etiquetando adecuadamente cada tubo.

NOTA: Algunas bombas de muestreo llevan incorporado un dispositivo indicador de funcionamiento defectuoso (al final de la toma de muestra indica si el flujo de aire se ha reducido o interrumpido durante el mismo), o bien un sistema de desconexión automático (que detiene el funcionamiento de la bomba si surgen problemas). En ambos se puede conocer la duración real de la toma de muestra y decidir sobre la validez de la muestra captada.

6.5. Por cada lote de muestras debe adjuntarse un tubo de muestra en blanco del mismo lote que los utilizados en el muestreo y sometido a las mismas manipulaciones, excepto que no se ha pasado aire a su través.

6.6. Las muestras se enviarán lo antes posible al laboratorio, almacenándose preferentemente refrigeradas. El análisis se llevará a cabo dentro de los 14 días siguientes a la toma de muestra (véase Tabla 6 del anexo A).

7. PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

7.1. Condiciones cromatográficas. Las condiciones de trabajo para el cromatógrafo de gases equipado según se indica en los apartados 5.2.2. y 5.2.3. son las siguientes:

Temperatura del inyector:	200 °C
Temperatura del horno:	90 °C
Temperatura del detector:	230 °C
Gas portador Helio:	(división flujo 1/40)

7.2. Análisis cromatográfico

7.2.1. Calibración

La concentración de los patrones de calibración deberá ser tal que la concentración de las muestras a analizar se encuentre siempre dentro del intervalo que abarcan dichos patrones.

Para efectuar la calibración se analiza por triplicado y en las mismas condiciones descritas para las muestras (véase 7.2.3.) cada una de las disoluciones patrón preparadas según se indica en el apartado 4.3.2.2.2. Para cada concentración se calcula el área (A) como la media aritmética de las tres inyecciones mencionadas.

Se establece la ecuación de regresión lineal, representando la concentración frente al área media (\bar{A})

$$\bar{A} = m(c) + b$$

donde:

\bar{A} es la media aritmética del área de las tres inyecciones,

m es la pendiente de la recta de calibración,

c es la concentración de alcohol expresada en mg/ml de disolución de desorción,

b es la ordenada en el origen de la recta de calibración.

NOTA: Una vez comprobado que la curva de calibración es lineal en todo el intervalo de aplicación del método, podría utilizarse la calibración a un solo nivel de concentración, sin que sea necesario repetir la calibración completa cada vez que se analiza.

7.2.2. Preparación de muestras y blancos

Se hace una muesca enfrente de la primera sección del tubo de anasorb 747 y se rompe el tubo. Se saca y se desecha la lana de vidrio. Se transfiere la primera sección del tubo de anasorb 747 a un vial y se añade 1 ml de disolución de desorción (4.3.1.) cerrándolo inmediatamente. Se agita el vial ocasionalmente durante un periodo de 30 minutos para completar la desorción. Se repite el mismo procedimiento para la segunda sección de anasorb utilizando otro vial.

7.2.3. Análisis de las muestras

Se inyecta 1 µl de las disoluciones resultantes de la desorción de las dos secciones del tubo de anasorb 747, preparadas según el apartado 7.2.2., en el cromatógrafo de gases.

La concentración del alcohol en mg/ml de disolución de desorción se obtiene interpolando el valor de (\bar{A}) para cada alcohol en la recta de calibrado establecida en el apartado 7.2.1.

7.3. Determinación de la eficacia de desorción

La eficacia de desorción de cada alcohol puede variar con el lote de anasorb 747 utilizado, siendo necesario por tanto calcularla para cada lote en el intervalo de aplicación del método.

Para calcular dicha eficacia se adicionaron 2; 5 y 10 µl de alcohol etílico y 4 µl de la disolución primaria (A) (4.3.2.1.1.) a:

- Seis viales que contienen 1 ml de disolución de desorción (4.3.1.). Estos viales se tratan como patrones, y

- Seis tubos que contienen 140 mg de anasorb 747. Estas preparaciones guardan refrigeradas durante toda la noche para garantizar la completa adsorción, y se desorben con 1 ml de disolución de desorción de la forma descrita en el apartado 7.2.2. Estos tubos se tratan como muestras.

Las cantidades adicionadas a cada tubo y vial representan aproximadamente 0,05; 0,1; 1 y 2 veces el valor límite VLA-ED para un volumen de muestreo de 2 litros.

Tanto los tubos tratados como muestras como los viales tratados como patrones, se analizan de la forma descrita en el apartado 7.2.3.

A partir de los resultados obtenidos se obtiene el valor de la eficacia de desorción (ED) mediante la siguiente expresión:

$$ED = \frac{\bar{c}_m}{\bar{c}_p}$$

donde:

\bar{c}_m es la concentración media de alcohol para cada concentración en mg/ml obtenida del análisis de los tubos tratados como muestras (7.3.),

\bar{c}_p es la concentración media del alcohol para cada concentración en mg/ml en los patrones (7.3.).

De acuerdo con los datos de la tabla 2 del anexo A, la eficacia de desorción puede considerarse constante e igual a 100% en todo el intervalo de aplicación del método.

Se recomienda calcular dicho valor en cada laboratorio y no utilizar aquellos tubos cuya eficacia de desorción sea inferior a 0,750 (UNE - EN 1076) (10.7.).

8. CÁLCULOS

8.1. Determinación de la cantidad de alcohol presente en la muestra

Una vez determinada la concentración de alcohol en la disolución de desorción (7.2.3.) y teniendo en cuenta el valor de la eficacia de desorción obtenido según el apartado 7.3., se calcula la cantidad presente en la muestra, en miligramos, mediante la siguiente expresión:

$$m_s = \frac{c_1 + c_2}{ED} \times V_d$$

donde:

m_s es la cantidad de alcohol presente en la muestra en mg,

c_1 es la concentración de alcohol en mg/ml en la disolución resultante de la desorción de la sección frontal del tubo de muestreo,

c_2 es la concentración de alcohol en mg/ml en la disolución resultante de la desorción de la sección posterior del tubo de muestreo,

ED es la eficacia de desorción,

V_d es el volumen de disolución de desorción en ml.

8.2. Determinación de la concentración de alcohol en el aire muestreado

Se calcula la concentración de alcohol en el aire muestreado, en miligramos por metro cúbico, por medio de la siguiente ecuación:

$$C = \frac{m_s}{V}$$

donde:

C es la concentración de alcohol en el aire muestreado en mg/m³,

m_s es la cantidad de alcohol presente en la muestra en mg obtenida en 8.1.,

V es el volumen de aire muestreado en m³.

Si se desea obtener la concentración expresada en mililitros por metro cúbico de aire (ppm), se aplica la siguiente expresión:

$$C(\text{ppm}) = C \times \frac{24,0}{M} \times \frac{101,3}{P} \times \frac{t + 273,15}{293,15}$$

donde:

C es la concentración en el aire muestreado en mg/m³,

P es la presión del aire muestreado en kPa (103 N/m²),

t es la temperatura del aire muestreado en °C,

M es el peso molecular del alcohol en g/mol,

24,0 es el volumen molar a 20 °C y 101,3 kPa,

9. PRECISIÓN

A partir de los datos del estudio intralaboratorio para la validación del método (véase el apartado A.5 del anexo A), obtenidos con muestras captadas en atmósferas de alcohol etílico de concentraciones conocidas,

se calculó la precisión del método en términos de coeficiente de variación, resultando ser inferior al 3% en todo el intervalo de aplicación del método. Del mismo estudio se dedujo que el sesgo del método es inferior al 3%.

La incertidumbre global del método, estimada como una combinación de sesgo y precisión según la Norma UNE - EN 482 (10.1.) resultó ser inferior al 6% en todo el intervalo ensayado.

10. BIBLIOGRAFÍA

10.1. UNE EN 482. *Atmósferas en el lugar de trabajo. Requisitos generales relativos al funcionamiento de los procedimientos para la medición de agentes químicos.*

10.2. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. *Protocolo de validación para la determinación de gases y vapores orgánicos en un adsorbente sólido mediante un sistema activo.* MTA/PV - I(2/98).

10.3. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. *Límites de exposición profesional para Agentes Químicos en España 2005.* Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales.

10.4. Real Decreto 363/1995 de 10 de marzo (BOE 5.6.95). *Reglamento sobre notificación de sustancias nuevas y clasificación, envasado y etiquetado de sustancias peligrosas.* Modificado el Anexo 1 por la Orden de 13.9.95 (BOE 19.9.95).

10.5. UNE EN 1232. *Atmósferas en el lugar de trabajo. Bombas para muestreos personales de agentes químicos.*

10.6. UNE EN 689. *Atmósferas en el lugar de trabajo. Directrices para la evaluación de la exposición por inhalación de agentes químicos para la comparación con los valores límite y estrategia de la medición.*

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

10.8. Occupational Safety and Health Agency. *Organics Methods Evaluation.* Method 100.

10.9. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. *Determinación de alcoholes (Alcohol secundílico) en aire.- Método de adsorción en carbón/Cromatografía de gases.* MTA/MA-058/A05.

10.10. CEN/TR 15230.2005. *Workplace atmospheres – Guidance for sampling of inhalable, thoracic and respirable aerosol fractions.*

10.11. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. *Criterios y Recomendaciones: Bombas de muestreo personal para agentes químicos.* CR-01/2005.

ANEXO A

Validación del método

La validación del método ha sido llevada a cabo siguiendo los criterios establecidos en el "Protocolo de validación para vapores orgánicos captados en un adsorbente sólido mediante un sistema activo" (10.2.), y el contenido de la normativa europea y española sobre el funcionamiento general de los procedimientos de medida y la captación mediante un sistema activo de vapores orgánicos en un adsorbente sólido. Los ensayos llevados a cabo y los resultados obtenidos en el proceso de validación están recogidos en este anexo.

En el proceso de validación se ha utilizado una instalación de atmósferas controladas de concentraciones conocidas que permite realizar los ensayos a diferentes niveles de concentración, temperatura y de humedad. La generación de la atmósfera de vapor del disolvente o disolventes de interés en aire se lleva a cabo utilizando un sistema dinámico de inyección del contaminante, por medio de una jeringa a una velocidad controlada, en una corriente de aire. La estabilidad de la atmósfera generada se verifica con la ayuda de un cromatógrafo de gases equipado con detector de ionización de llama y una válvula de inyección gaseosa.

A.1 Volumen de ruptura

El volumen de ruptura (V_R), volumen de aire contaminado que puede pasarse a través de la primera sección del tubo de muestreo, antes de que la concentración de contaminante en el aire eluyente alcance el 5% de la concentración de entrada, es un parámetro que permite estimar el volumen de muestra recomendable para el método.

La determinación del volumen de ruptura se ha llevado a cabo haciendo pasar el aire contaminado procedente de la atmósfera de ensayo a un caudal de 0,05 l/min a través de la primera sección de un tubo de anasorb 747 conectado en serie con un medidor de caudal y una válvula de inyección gaseosa, al inyector de un cromatógrafo de gases equipado con un detector de ionización de llama.

Las condiciones del ensayo efectuado son las siguientes:

- Concentración: 2 VL;
- Caudal: 0,05 l/min;
- Humedad relativa: $(80 \pm 5)\%$;
- Temperatura: $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

La atmósfera utilizada ha sido generada inyectando alcohol etílico a un caudal de inyección de 10 μ l/min en una corriente de aire que fluye aproximadamente a 2 l/min. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 1.

En función del valor obtenido para el volumen de ruptura (V_R) se establecen las condiciones de muestreo, considerando que el volumen de muestreo recomendado deberá ser inferior a los 2/3 del volumen de ruptura calculado. Estas condiciones para el caso del etanol son:

- Caudal de muestreo 0,05 l/min
- Tiempo de muestreo 40 minutos

Tabla 1

Volumen de ruptura V_R

Compuesto	H_R (%)	C (mg/m ³)	Q_{TM} (l/min)	V_R (l)
Alcohol etílico	79,5	3697,54	0,05	5,07
	79,2	3721,85	0,05	5,06
	79,6	3820,62	0,05	5,04

C es la concentración generada en la atmósfera de ensayo

H_R es la humedad relativa de la atmósfera de ensayo

Q_{TM} es el caudal de toma de muestra

V_R es el volumen de ruptura. Véase definición en el capítulo 2

A.2 Eficacia de desorción

La determinación de la eficacia de desorción, relación entre la masa de analito medida en la muestra y la masa de analito añadida a la muestra, se ha llevado a cabo siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 7.3.

Los resultados obtenidos que se muestran en la tabla 2 indican que la eficacia de desorción del alcohol etílico cumple con el requisito exigible de ser > 75% con un coeficiente de variación < 7% especificado en el protocolo de validación (10.2.). Esta eficacia de desorción puede ser considerarla constante en todo el intervalo de aplicación del método e igual a 100% y por tanto no es necesaria ninguna corrección adicional sobre los resultados obtenido en los análisis.

Tabla 2

Eficacia de desorción(ED)

Compuesto	\bar{C}_p (mg/ml)	\bar{C}_m (mg/ml)	n	CV (%)	ED
Alcohol etílico	0,318	0,308	6	0,46	96,8
	1,569	1,566	6	1,06	99,8
	3,972	4,043	6	0,86	101,8
	7,953	7,960	6	0,51	100,1

\bar{C}_m es la concentración media en mg/ml obtenida del análisis de los tubos tratados como muestras (7.3.)

\bar{C}_p es la concentración media en mg/ml en los patrones (7.3.)

n es el número de réplicas

CV es el coeficiente de variación

ED es la eficacia de desorción media por concentración

A.3 Influencia de la humedad relativa

Las muestras utilizadas para el estudio para conocer la posible influencia de la humedad de la atmósfera en la recuperación del analito se han captado en una atmósfera de alcohol etílico bajo las siguientes condiciones:

- Concentración: 0,1 VL y 2 VL;
- Caudal: 0,05 l/min;
- Tiempo: 40 minutos;
- Humedad relativa: $(20 \pm 5)\%$ y $(80 \pm 5)\%$;
- Temperatura: $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$.

Estas atmósferas de ensayo se han generado inyectando de forma continua alcohol etílico a un caudal de $10 \mu\text{l/min}$ y $0,5 \mu\text{l/min}$ en una corriente de aire que fluye aproximadamente a 2 l/min .

A la vista de los resultados obtenidos y mostrados en la tabla 3, se puede considerar que la humedad no influye en la recuperación del alcohol etílico y, por consiguiente, que el método es aplicable en al menos un intervalo de humedad relativa entre 20% y 80%.

Tabla 3

Efecto de la humedad relativa

Compuesto	H _R (%)	C _A (mg/m ³)	C _R (mg/m ³)	n	CV (%)	Sesgo (%)
Alcohol etílico	85,0	192,92	184,78	6	0,80	- 4,22
	22,3	195,27	184,78	6	0,53	- 5,37
	82,3	3680,93	3819,60	6	3,10	+ 3,80
	21,4	3804,21	3722,49	6	0,83	- 2,15

C_A es la concentración generada en la atmósfera de ensayo

C_R es la concentración media recuperada de los tubos de anasorb 747 analizados al día siguiente a su captación

H_R es la humedad relativa de la atmósfera de ensayo

T^a es la temperatura de la atmósfera de ensayo

n es el número de réplicas

CV es el coeficiente de variación

Sesgo es el sesgo relativo expresado como: $100 \times |C_R - C_A| / C_A$.

A.4 Influencia de la temperatura

Las muestras utilizadas en el estudio encaminado a conocer la influencia de la temperatura en la captación del alcohol etílico se han tomado en una atmósfera de alcohol etílico bajo las siguientes condiciones de exposición:

- Concentración: 2 VL;
- Caudal: 0,05 l/min;
- Tiempo: 40 minutos;
- Humedad relativa: $(50 \pm 5)\%$;
- Temperatura: $(15 \pm 2)^\circ\text{C}$ y $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$

Esta atmósfera de ensayo se ha generado inyectando de forma continuada alcohol etílico a un caudal de 10 μ l/min, en una corriente de aire que fluye aproximadamente a 2 l/min.

A la vista de los resultados obtenidos y mostrados en la tabla 4, se puede considerar que la temperatura no afecta a la recuperación y por consiguiente, el intervalo de temperatura en el que el método es aplicable es al menos de 15 °C a 30 °C.

Tabla 4
Efecto de la temperatura

Compuesto	T ^a (°C)	C _A (mg/m ³)	C _R (mg/m ³)	n	CV (%)	Sesgo (%)
Alcohol etílico	27,	3769,31	3747,33	6	1,79	- 0,58
	14,	3876,72	3748,00	6	0,63	- 3,32

H_R es la humedad relativa de la atmósfera de ensayo

T^a es la temperatura de la atmósfera de ensayo

C_A es la concentración generada en la atmósfera de ensayo

C_R es la concentración media recuperada de los tubos de anasorb 747 analizados al día siguiente a su captación

n es el número de muestras

CV es el coeficiente de variación

Sesgo es el sesgo relativo expresado como: $100 \times \left| C_R - C_A \right| / C_A$

A.5 Influencia de la concentración

Una vez establecido el intervalo de humedad relativa y temperatura en el que el método es aplicable, se lleva a cabo el ensayo para conocer la influencia de la concentración sobre el funcionamiento del método. Los resultados obtenidos en este ensayo permiten calcular la precisión, el sesgo y la incertidumbre global a las diferentes concentraciones ensayadas y que cubren el intervalo de trabajo del método.

Las muestras utilizadas para el estudio de la influencia de la concentración se han captado en una atmósfera de alcohol etílico bajo las siguientes condiciones de exposición:

- Concentración: 0,1VL, 0,5VL, 1VL y 2VL;
- Caudal: 0,05 l/min;
- Tiempo: 40 minutos;
- Humedad relativa: (50 \pm 5)%;
- Temperatura: (20 \pm 2) °C.

Estas atmósferas de ensayo se han generado inyectando de forma continuada alcohol etílico a un caudal de 10 μ l/min, 5 μ l/min, 2,5 μ l/min y 0,5 μ l/min en una corriente de aire que fluye aproximadamente a 2 l/min. Los resultados obtenidos en este ensayo están recogidos en la tabla 5.

Tabla 5

Efecto de la concentración - Datos Intralaboratorio

Compuesto	H _R (%)	T ^a (°C)	C _A (mg/m ³)	C _R (mg/m ³)	n	CV (%)	Sesgo (%)	IG (%)
Alcohol etílico	49,7	20,9	3667,40	3720,92	6	1,11	+ 1,46	3,68
	48,2	21,0	1854,19	1905,71	6	1,17	+ 2,78	5,12
	45,2	21,1	933,44	926,92	6	1,25	- 0,70	3,20
	46,8	21,0	194,49	194,19	6	2,12	- 0,15	4,39

H_R es la humedad relativa de la atmósfera de ensayo

T^a es la temperatura de la atmósfera de ensayo

C_A es la concentración generada en la atmósfera de ensayo

C_R es la concentración media recuperada de los tubos deanasorb 747 analizados al día siguiente a su captación

n es el número de muestras

CV es el coeficiente de variación

Sesgo es el sesgo relativo expresado como: $100 \times |C_R - C_A| / C_A$

IG es la incertidumbre global (UNE EN 482) (10.4.), expresada en porcentaje, por una combinación del sesgo y de la precisión: $IG = \text{SESGO} + 2 \text{CV}$

A.6 Estudio de estabilidad y conservación

Para establecer las condiciones de conservación y el tiempo máximo que las muestras pueden permanecer almacenadas antes de ser analizadas, se han captado en una atmósfera con las mismas características indicadas en el apartado A.5, un total de 12 muestras de la concentración más alta (nivel alto) y 12 muestras de la concentración más baja (nivel bajo), a una humedad relativa del 80%.

El mismo día de la captación se analizan 6 muestras de cada nivel (análisis inmediato). Las restantes 12 muestras se dividen en 2 lotes que contienen cada uno 6 muestras por cada concentración y se conservan refrigeradas (4 °C). Los análisis de estas muestras se llevan a cabo a los 7 (primer lote) y 14 días (segundo lote) desde la captación.

Se considera como tiempo máximo de conservación aquel periodo máximo ensayado en que la diferencia de los resultados obtenidos con las muestras analizadas inmediatamente y los obtenidos con las analizadas tras dicho período no difiere en más de un 10%.

Los resultados obtenidos en el ensayo, mostrados en la tabla 6, indican que las muestras pueden permanecer refrigeradas durante 14 días antes de su análisis.

Tabla 6

Estudio de estabilidad de las muestras

Compuesto	Días	T ^a (°C)	C _{RF} (t días) (mg/m ³)	CV (%)	C _{RFB} (t días) (mg/m ³)	Dif (%)
Alcohol etílico	0		184,78	0,53		
	7	refrigeradas	184,15	1,09		- 0,30
	14	refrigeradas	186,06	1,59		+ 0,69
	0		3819,60	3,10		
	7	refrigeradas	3723,55	1,47		- 2,51
	14	refrigeradas	3615,21	1,93		- 5,35

C_{RF} (t días) es la concentración media recuperada en la 1^a parte del tubo analizado al cabo de t días desde la toma de muestra

C_{RFB} (t días) es la concentración media recuperada en la 2^a parte del tubo analizado al cabo de t días desde la toma de muestra

CV es el coeficiente de variación

Dif es la diferencia, en porcentaje, entre la concentración media recuperada en los tubos analizados al cabo de t días y los analizados al día siguiente de la captación

T^a es la temperatura de almacenamiento de las muestras

Nota: Este ensayo forma parte del ensayo del efecto de la humedad relativa (tabla 5).

ANEXO B

Desarrollo de la curva de calibración

En el desarrollo del método analítico se ha establecido una curva de calibración cuyos patrones se han preparado, mediante medición volumétrica y posterior control gravimétrico de las medidas, a partir de adiciones de la llamada disolución primaria A (véase 3.2.1.1.) que contiene un 7,66% de alcohol etílico, y de adiciones de etanol puro a 1 ml de disolución de desorción

El procedimiento de preparación es el siguiente:

- Se pesa un vial vacío,
- Se le adiciona 1 ml de la disolución de desorción y se vuelve a pesar.
- Se le adiciona la cantidad correspondiente de alcohol etílico (a partir del alcohol puro o de la disolución primaria A) y pesa de nuevo.

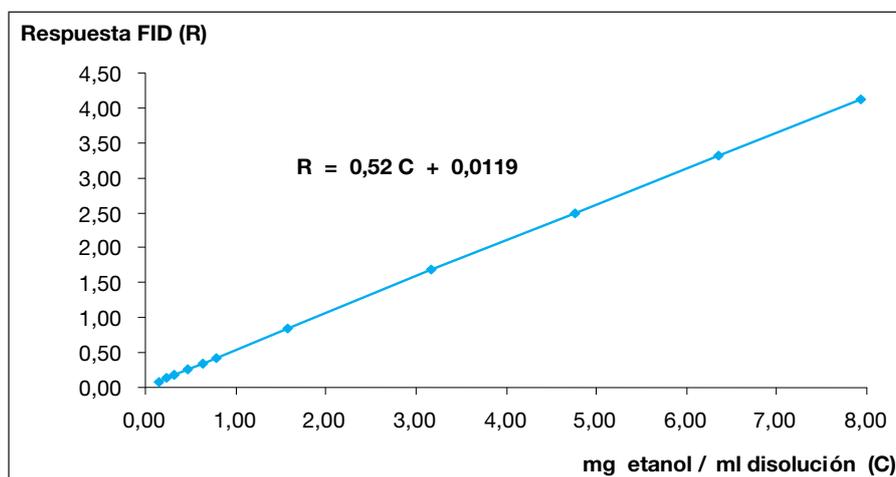
Estos patrones se han analizado por triplicado en las mismas condiciones que las muestras.

Tabla 7

Construcción de la curva de calibración

Adición de etanol (μl)	Concentración (C) mg etanol/ml disolución	Respuesta promedio R
2 (A)	0,156	0,0887
3 (A)	0,238	0,1313
4 (A)	0,314	0,1741
6 (A)	0,478	0,2591
8 (A)	0,641	0,3463
1 EtOH	0,793	0,4279
2 EtOH	1,573	0,8372
4 EtOH	3,165	1,6790
6 EtOH	4,767	2,4881
8 EtOH	6,356	3,3157
10 EtOH	7,931	4,1276

La curva de calibración se obtiene representando el promedio de las respuestas obtenidas frente a las concentraciones correspondientes.





MINISTERIO
DE TRABAJO
E INMIGRACIÓN



INSTITUTO NACIONAL
DE SEGURIDAD E HIGIENE
EN EL TRABAJO