



Aplicación del diseño experimental a la determinación de benceno en orina mediante SPME/GC-MS

C. Prado y J.F. Periago

Instituto de Seguridad y Salud Laboral de la Región de Murcia. issl@car.m.es

Introducción

- El benceno es un contaminante ambiental con un potencial carcinogénico bien establecido. Los trabajadores de estaciones de servicio están expuestos a benceno y, respecto a la población general, las concentraciones atmosféricas pueden llegar a la centena de $\mu\text{g}/\text{m}^3$ en zonas urbanas con alta densidad de tráfico.
- La excreción urinaria del benceno sin metabolizar es un índice adecuado para la evaluación de exposiciones ambientales a bajos niveles de concentración. El uso de la técnica de microextracción en fase sólida (SPME) en combinación con GC-MS ofrece ventajas para su determinación.
- El objetivo es establecer un método para la determinación de benceno en orina estimando la influencia de las diferentes variables que intervienen en el proceso y optimizando aquéllas que sean significativas.

Experimental

- Fibra: 100 μm polidimetilsiloxano, espacio en cabeza
- Disoluciones de trabajo: benceno en disolución acuosa (6.6 ng/ml)
- Agitación
- MS HP5973 Modo SIM, m/z 78

- HP6890 Modo splitless
- Inyección a 200°C durante 2 min
- Columna HP1-MS (50m x 0.25 mm x 1 μm)
- Horno 40°C 2 min, 8°C/min 100°C

Resultados y discusión

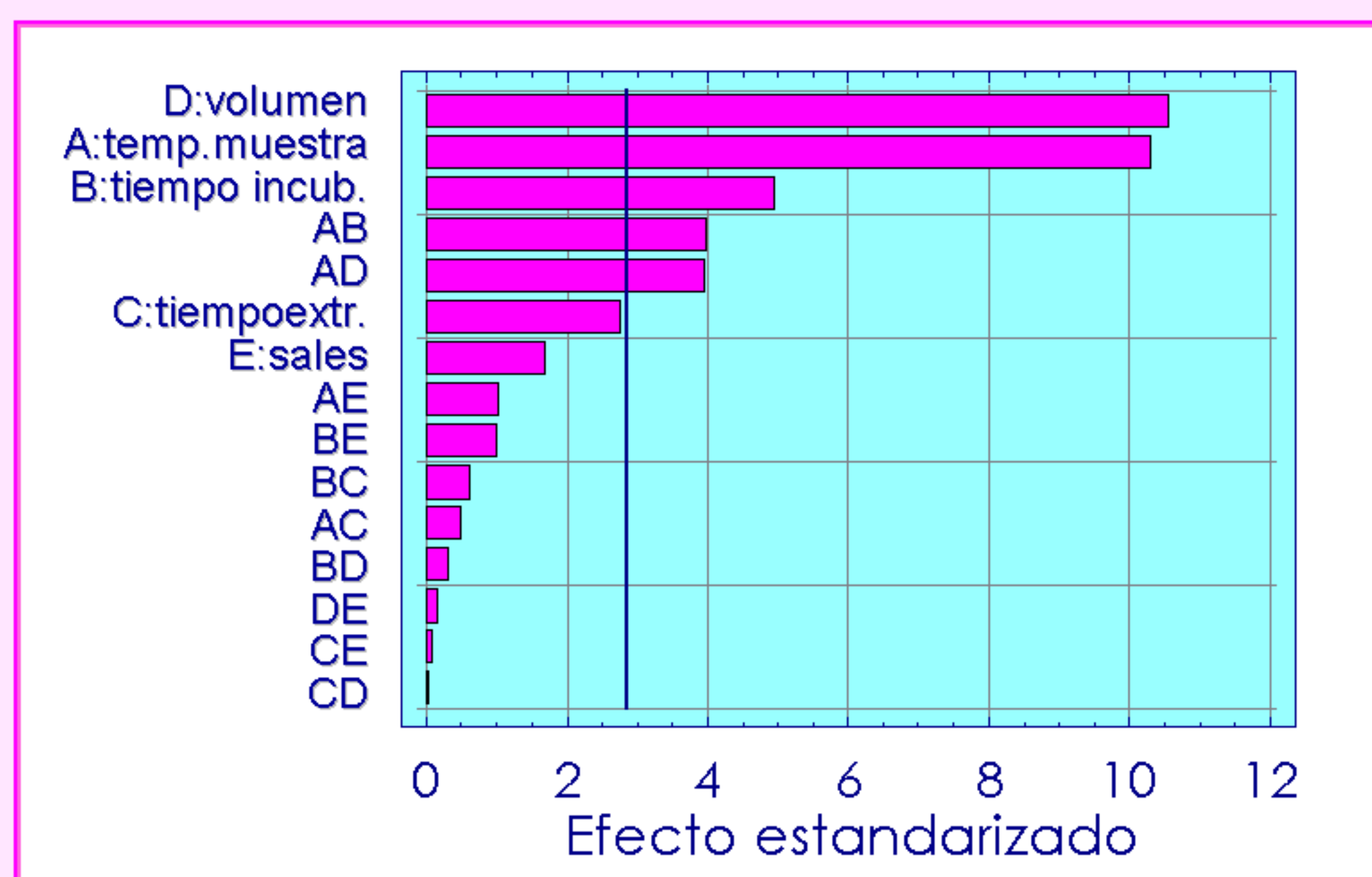
Screening

- Diseño experimental fraccionado
- Factores estudiados: 5
- Número de bloques: 2
- Número de puntos centrales por bloque: 2
- Número de experimentos: 36
- Orden de las experiencias: aleatorio

- Temperatura de la muestra 15 – 60°C
- Tiempo de incubación 1 – 30 min
- Tiempo de extracción 1 – 15 min
- Volumen de muestra 0.5 – 2.5 ml
- sales no – sí(NaCl)

Teq. (°C)	t eq. (min)	t ads (min)	V orina (ml)	sales	Run	Bloque	Area	Area	Bloque	Run
37.5	15.5	8	1.5	no	1	1	6319	6098	2	19
15.0	30.0	1	0.5	no	2	1	6629	8590	2	20
15.0	30.0	1	2.5	si	3	1	31468	36598	2	21
60.0	30.0	15	2.5	si	4	1	11580	11583	2	22
60.0	30.0	1	2.5	no	5	1	15515	15382	2	23
15.0	1.0	15	0.5	no	6	1	5691	3894	2	24
60.0	30.0	15	0.5	no	7	1	2756	623	2	25
60.0	1.0	15	0.5	si	8	1	2901	3182	2	26
60.0	1.0	1	0.5	no	9	1	6976	2962	2	27
60.0	30.0	1	0.5	si	10	1	3679	4173	2	28
15.0	30.0	15	0.5	si	11	1	5286	7174	2	29
15.0	1.0	15	2.5	si	12	1	49365	42535	2	30
15.0	1.0	1	0.5	si	13	1	27895	27455	2	31
60.0	1.0	1	2.5	si	14	1	19157	19146	2	32
15.0	1.0	1	2.5	no	15	1	49602	43802	2	33
15.0	30.0	15	2.5	no	16	1	26017	28226	2	34
60.0	1.0	15	2.5	no	17	1	11413	12305	2	35
37.5	15.5	8	1.5	si	18	1	8056	9927	2	36

Matriz del diseño y respuesta obtenida en cada experiencia



Efectos estimados de los factores estudiados y de sus interacciones

El volumen de muestra, su temperatura y el tiempo de incubación son las variables que más influyen en la respuesta

Superficie de respuesta

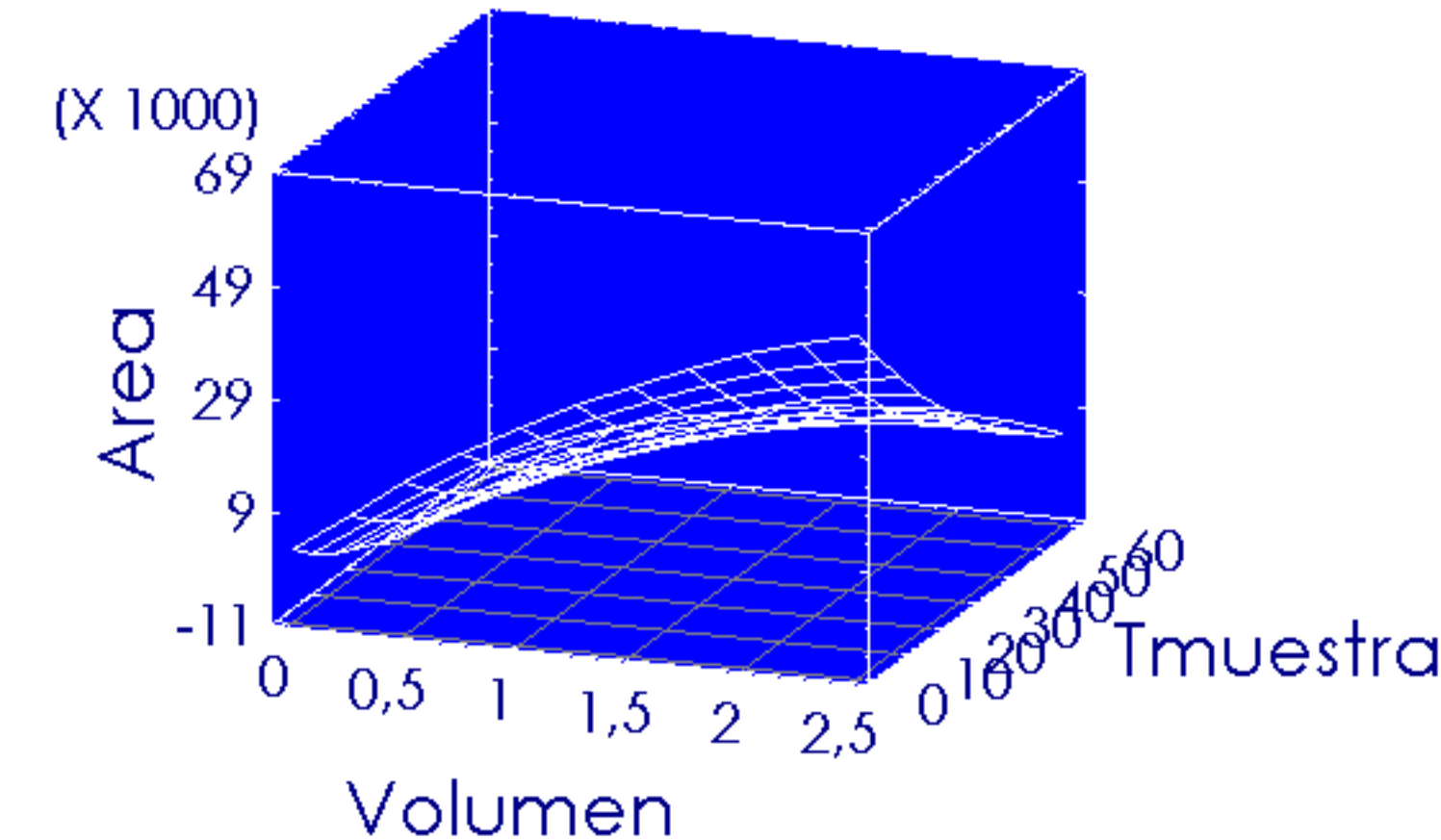
- Diseño factorial de tres niveles en tres bloques
- Factores estudiados: 3
- Número de bloques: 3
- Número de puntos centrales por bloque: 1
- Número de experimentos: 30

- Tiempo de incubación 1-8-15 min
- Volumen 0.5-1.5-2.5 ml
- Temperatura de la muestra 10-35- 60°C

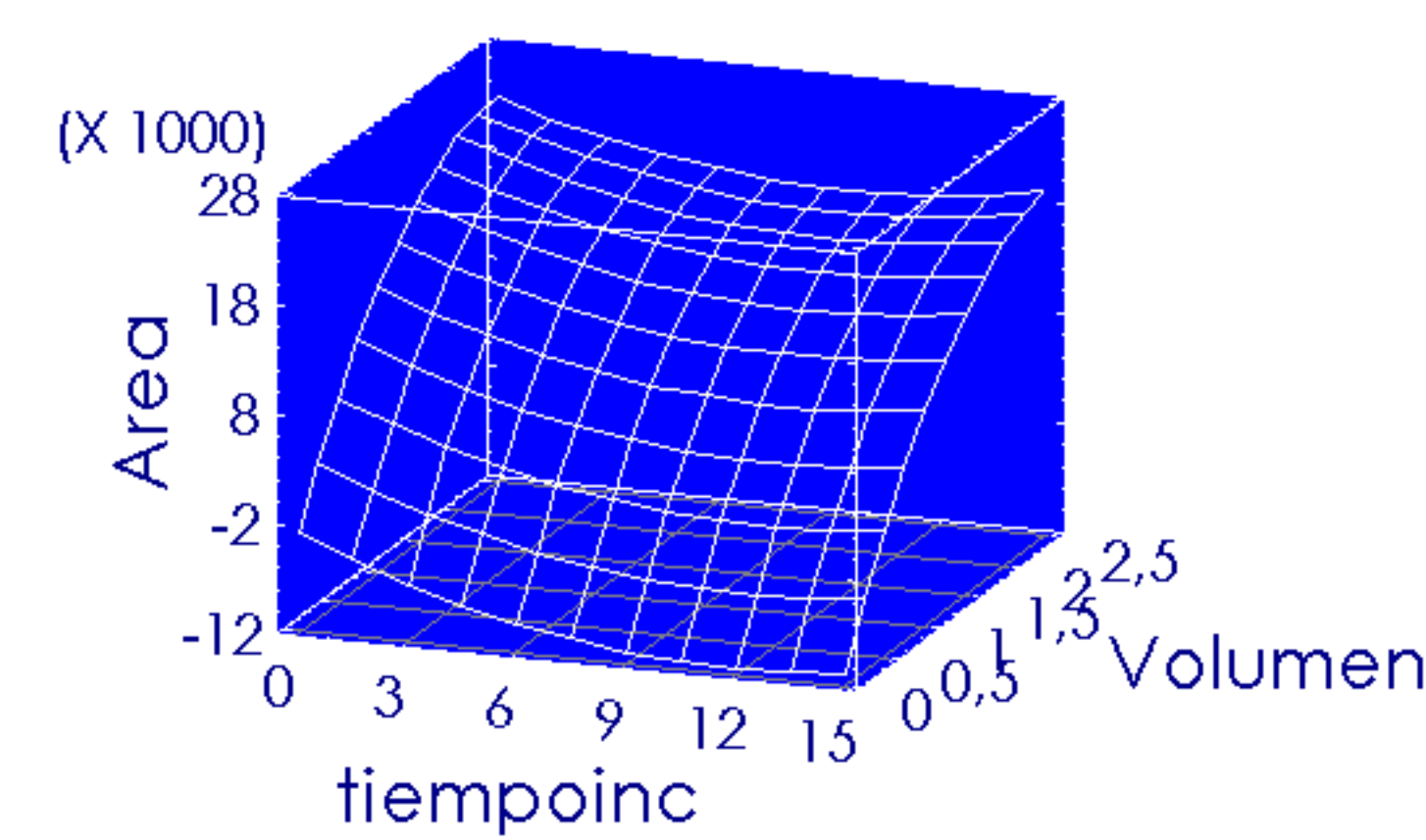
Efecto	SS	DF	MS	F-ratio	Valor de p
A: Tiempo inc.	8.1192 E7	1	8.1192 E7	2.65	0.1210
B: Volumen	1.5265 E9	1	1.5265 E9	19.59	0.0000
C: T muestra	2.2995 E8	1	2.2995 E8	13.70	0.0000
AA	5.5432 E7	1	5.5432 E7	11.75	0.1954
AB	6.6038 E6	1	6.6038 E6	1.69	0.6481
AC	2.0295 E6	1	2.0295 E6	24.42	0.7998
BB	1.2529 E8	1	1.2529 E8	3.51	0.0583
BC	3.6317 E8	1	3.6317 E8	2.09	0.0029
CC	1.1748 E8	1	1.1748 E8	0.57	0.0659
Bloques	1.0093 E8	2	5.0467 E7	0.06	0.2204
Error Total	5.5162 E8	18	3.0645 E7		
Total (corr)	5.2013 E9	29			

Resumen de los resultados del test ANOVA para los datos obtenidos

SS: suma de cuadrados
DF: grados de libertad MS: cuadrados medios
efectos significativos a $\alpha=0.01$



Variación del área de benceno respecto al volumen y a la temperatura de la muestra



Variación del área de benceno respecto al volumen y al tiempo de incubación a la temperatura de extracción de la muestra

Ecuación del modelo ajustado
 $\text{Area} = 5048 + 16911 * \text{Volumen} - 122 * \text{Tmuestra} - 220 * \text{Volumen} * \text{Tmuestra}$

Conclusiones

- La presencia de sales y el tiempo de extracción afectan poco a la cantidad de benceno extraída
- El efecto del tiempo de incubación y del volumen de muestra es mayor cuanto menor es la temperatura
- Las condiciones óptimas son: volumen de 2.5 ml, tiempo de incubación de 1 min, tiempo de extracción 1 min y temperatura 10-15°C