

E. Jiménez Guillén, C. Prado Burguete
Instituto de Seguridad y Salud Laboral de la Región de Murcia

Introducción

- ⇒ El formaldehído sigue siendo una de las sustancias más utilizadas en diferentes procesos industriales, pero además su facilidad de polimerización hace que se emplee como materia prima para la fabricación de resinas, siendo estos productos fuentes potenciales de exposición a formaldehído.
- ⇒ El formaldehído debe considerarse como un agente químico especialmente peligroso, de acción irritante (la irritación ocular se presenta en el hombre a concentraciones entre 0.1 y 1 ppm), sensibilizante cutáneo y está reclasificado por la International Agency for Research on Cancer (IARC) dentro del grupo 1 (carcinogénico en humanos)(1). Tanto por su consideración como sensibilizante como por su carácter carcinogénico deben tomarse todas las medidas apropiadas para reducir al mínimo la exposición humana a esta sustancia.
- ⇒ Se trata de un agente químico tóxico cuyo VLA-EC es de 0.3 ppm (0.37 mg/m³) (1).

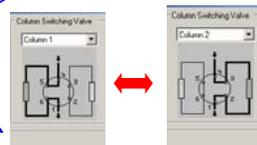
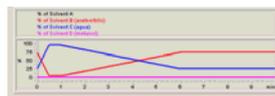
Objetivos

- ★ Desarrollar un método de preparación de muestra (preconcentración) que utiliza los principios de la cromatografía líquida para aislar, enriquecer y purificar analitos desde una matriz muestra aplicada a un adsorbente (2).
- ★ Comparar el método de preconcentración en línea con un método cromatográfico.
- ★ Reducir el tiempo de preparación de muestra y bajar los límites de detección para el analito de nuestro estudio.

Experiencias y resultados

METODO DE PRECONCENTRACIÓN EN LÍNEA CON HPLC

CONDICIONES CROMATOGRAFICAS	
Sistema en línea	
Columna analítica	Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18 4,6 x 250 mm 5 µm
Columna de enriquecimiento	Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18 4,6 x 12,5 mm 5 µm
Fases móviles	A = Agua B = Acetonitrilo
Flujo bomba enriquecimiento	0.5 ml/min – 1 ml/min (gradiente)
Flujo bomba analítica	0.6 ml/min (isocrático) 60% B / 40% A
Gradiente para la bomba enriquecimiento	0 min 75% B / 25% A (acondicionamiento) 0.5 min 90% B / 10% A 1 min 90% B / 10% A 6 min 75% B / 25% A (acondicionamiento)
Cambio de la válvula	En el minuto 1 cambiamos a la posición B (elución y análisis)
Señal DAD	360 nm
Inyector	100 µL de muestra

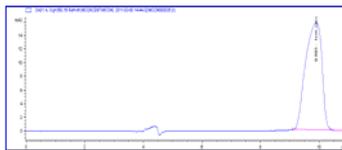


POSICIÓN A POSICIÓN B

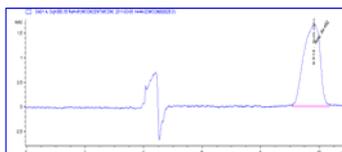
POSICIÓN A (CARGA Y LAVADO)



POSICIÓN B (ELUCIÓN Y ANALISIS)



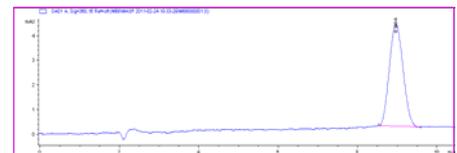
Cromatograma del patrón de concentración 0.201 µg/ml
Tr= 9.803 min Area = 604.7 Altura = 15.9



Cromatograma del patrón de concentración 0.020 µg/ml
Tr= 9.791 min Area = 62.9 Altura = 1.7

METODO CROMATOGRAFICO. HPLC

CONDICIONES CROMATOGRAFICAS	
Columna analítica	Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18 4,6 x 250 mm 5 µm
Fases móviles	A = Agua B = Acetonitrilo
Flujo bomba analítica	1.3 ml/min (isocrático) (3) 45:55 (A:B)
Señal DAD	360 nm
Inyector	20 µL de muestra



Cromatograma del patrón de concentración 0.169 µg/ml
Tr= 8.964 min Area = 98.5 Altura = 4.1

COMPARACIÓN DE LOS DOS METODOS

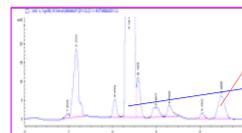


Figura A

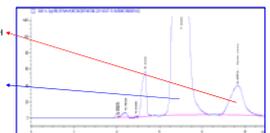


Figura B

Método	Intervalo	Linealidad Y = a + bx (n=6)	Precisión		Límite de Detección
			Intra-día CV% (n=3)	Inter-día CV% (n=6)	
Método Cromatográfico	0.17 - 16.96 µg/ml	a ± tS _a : 454.01 ± 3.20 b ± tS _b : 22.46 ± 24.17 R ² = 0.99992	0.170 µg/ml	0.85	3.32
			1.696 µg/ml	0.96	2.34
			16.960 µg/ml	0.65	1.43
Sistema en línea con HPLC	0.002 - 0.201 µg/ml	a ± tS _a : 3006.81 ± 15.68 b ± tS _b : 4.11 ± 1.39 R ² = 0.99993	0.002 µg/ml	6.22	11.05
			0.020 µg/ml	1.12	5.60
			0.201 µg/ml	1.82	2.77

Cromatograma de una muestra de concentración 0.294 µg/ml de formaldehído.
Figura A (Método cromatográfico)
Tr= 8.966 min Area = 135.7
Altura = 6.3
Figura B (Método de preconcentración en línea)
Tr= 9.653 min
Area = 1651.6
Altura = 37.2
F-DNPH (formaldehído 2,4-dinitrofenilhidrazona)
DNPH (2,4-dinitrofenilhidrazona)

Cuadro con los parámetros analíticos correspondientes a ambos métodos.

Conclusiones

La fiabilidad de los dos métodos se evaluó procesando patrones en acetonitrilo que contenían el derivatizado de formaldehído en dos intervalos de concentración (µg/ml) obteniéndose buenos resultados de linealidad ya que en ambos métodos el coeficiente de correlación es mayor de 0.9995, y el valor calculado de t que es mayor al valor utilizado en las tablas de prueba de dos colas y (n-2) grados de libertad. La precisión de ambos métodos, descrita por los coeficientes de variación intra-día e inter-día también es adecuada. La ventaja del método de preconcentración en línea además de reducir el tiempo de preparación de muestra y de la elevada sensibilidad que presenta es la reducción de los límites de detección y cuantificación.

Bibliografía

1. Límites de Exposición Profesional para Agentes Químicos en España 2011. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (2011). www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentación/TextosOnline/Valores_Limite/limites2011/Limites2011web.pdf.
2. Automated sample preparation-sample enrichment and clean-up with the Agilent 1100 Series valve solutions. Agilent Brochure, Publication Number 5989-0510EN (2004).
3. Método MTA/MA-062/A08. Determinación de formaldehído en aire – método de captación en gel de sílice impregnada con 2,4-dinitrofenilhidrazina / Cromatografía líquida de alta resolución. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo.