

UNIVERSIDAD DE MURCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS SOCIO-SANITARIAS

UNIDAD DOCENTE DE MEDICINA LEGAL Y FORENSE



***CONTROL AMBIENTAL Y BIOLÓGICO DE LA
EXPOSICIÓN LABORAL A ESTIRENO***

***Isidro J. Ibarra Berrocal
Murcia, Septiembre de 2002***

ÍNDICE

	<u>Página</u>
1 INTRODUCCIÓN	1
1.1 El estireno: uso, producción y exposición laboral.....	3
1.2 Absorción de estireno, metabolismo y eliminación.....	10
1.3 Efectos tóxicos del estireno.....	14
1.4 Evaluación y control de la exposición a contaminantes químicos.....	17
1.4.1 Control ambiental.....	18
1.4.2 Control biológico.....	27
<u>Indicador biológico</u>	29
<u>Espécimen biológico</u>	31
<u>Ventajas y limitaciones del control biológico</u>	35
<u>Indicadores biológicos de estireno</u>	39
1.4.3 Metodologías analíticas para el control ambiental y biológico.....	40
<u>Metodologías para control ambiental</u>	40
<u>Metodologías para control biológico</u>	42
1.5 Reglamentación sobre la exposición laboral a agentes químicos.....	44
1.6 Valores de referencia.....	47
1.6.1 Valores ambientales de referencia.....	49
1.6.2 Valores biológicos de referencia.....	53
1.7 Bibliografía.....	57
2 OBJETIVOS	67
3 EVALUACIÓN DE ESTIRENO EN AIRE MEDIANTE MUESTREADORES PASIVOS PARA DESORCIÓN CON DISOLVENTE Y CROMATOGRAFÍA DE GASES	71
3.1 Introducción.....	73
3.2 Materiales y métodos.....	74
3.2.1 Método de toma de muestras.....	74
3.2.2 Condiciones de desorción y análisis.....	76
3.2.3 Determinación de la eficacia de desorción.....	78
3.2.4 Determinación de la velocidad de captación.....	79
<u>Sistema generador de atmósferas de concentración conocida</u>	80
<u>Influencia de la concentración y el tiempo de exposición</u>	85
<u>Estudio de la estabilidad de las muestras</u>	86
<u>Exposición a concentración cero</u>	87
3.3 Resultados y discusión.....	87
3.3.1 Eficacia de desorción.....	87
3.3.2 Estudio concentración-tiempo.....	88
<u>Estabilidad de las muestras</u>	91
<u>Exposición a concentración cero</u>	92

	<u>Página</u>
3.3.3 Muestréos apareados.....	92
3.4 Resumen de las condiciones de utilización del procedimiento.....	94
3.5 Bibliografía.....	95
4 EVALUACIÓN DE ESTIRENO EN AIRE MEDIANTE MUESTREADORES PASIVOS PARA DESORCIÓN TÉRMICA Y CROMATOGRAFÍA DE GASES.....	97
4.1 Introducción.....	99
4.2 Materiales y métodos.....	100
4.2.1 Selección de adsorbentes.....	100
4.2.2 Sistemas de muestreo empleados.....	103
4.2.3 Condiciones de desorción y análisis.....	104
4.2.4 Preparación de tubos patrón.....	107
4.2.5 Determinación de la eficacia de desorción.....	107
4.2.6 Determinación de la velocidad de captación.....	108
<u>Cálculo de la velocidad de captación nominal</u>	108
<u>Efecto de la concentración y del tiempo de exposición en el funcionamiento del muestreador</u>	108
<u>Estudio del efecto de la humedad y el almacenamiento sobre el funcionamiento del muestreador</u>	109
<u>Exposición a concentración cero</u>	110
4.3 Resultados y discusión.....	110
4.3.1 Selección de adsorbentes.....	110
4.3.2 Velocidad de captación.....	112
<u>Cálculo de la velocidad de captación por difusión nominal</u>	112
<u>Efecto de la concentración y del tiempo de exposición en el funcionamiento del muestreador</u>	113
<u>Efecto de la humedad y el almacenamiento sobre el funcionamiento del muestreador</u>	116
<u>Exposición a concentración cero</u>	118
4.3.4 Muestréos apareados.....	118
4.4 Resumen de las condiciones de utilización del procedimiento.....	120
4.5 Bibliografía.....	120
5 DETERMINACIÓN DE ESTIRENO EN AIRE EXHALADO MEDIANTE CAPTACIÓN EN TUBO ADSORBENTE, DESORCIÓN TÉRMICA Y CROMATOGRAFÍA DE GASES.....	123
5.1 Introducción.....	125
5.2 Materiales y métodos.....	127
5.2.1 Toma de muestras de aire exhalado.....	127
5.2.2 Método de desorción y análisis.....	130
5.2.3 Preparación de tubos estándar para calibración.....	132

<u>Preparación de tubos estándar mediante adición de disoluciones patrón de estireno</u>	132
<u>Preparación de tubos estándar para calibración mediante el sistema generador de atmósferas</u>	132
5.2.4 Determinación de la eficacia de desorción.....	133
5.2.5 Estudio muestreo-análisis.....	134
<u>Efecto de la concentración y la humedad</u>	135
<u>Estudio de la estabilidad de las muestras</u>	135
5.3 Resultados y discusión.....	136
5.3.1 Condiciones de desorción y análisis.....	136
5.3.2 Estudio muestreo-análisis.....	138
<u>Estabilidad de las muestras</u>	139
5.3.3 Perfiles de estireno en aire exhalado.....	140
5.4 Resumen de las condiciones de utilización del procedimiento.....	141
5.5 Bibliografía.....	142
6 DETERMINACIÓN DE ESTIRENO EN ORINA MEDIANTE PURGA Y TRAMPA, DESORCIÓN TÉRMICA Y CROMATOGRAFÍA DE GASES	145
6.1 Introducción.....	147
6.2 Materiales y métodos.....	148
6.2.1 Método de purga y trampa.....	148
6.2.2 Desorción y análisis.....	149
6.2.3 Estudio muestreo-análisis.....	151
<u>Ensayos de recuperación</u>	151
<u>Estudio de la estabilidad de las muestras</u>	151
<u>Repetibilidad del procedimiento analítico</u>	151
6.3 Resultados y discusión.....	152
6.3.1 Condiciones analíticas.....	152
6.3.2 Resultados de recuperación.....	152
6.3.3 Almacenamiento.....	153
6.3.4 Repetibilidad.....	154
6.4 Resumen de las condiciones de utilización del procedimiento.....	155
6.5 Bibliografía.....	155
7 ANÁLISIS COMPARATIVO ENTRE LOS PROCEDIMIENTOS DE CONTROL AMBIENTAL EN UNA POBLACIÓN LABORALMENTE EXPUESTA	157
7.1 Introducción.....	159
7.2 Materiales y métodos.....	160
7.2.1 Toma de muestras ambientales.....	160
7.2.2 Análisis.....	161

	<u>Página</u>
7.3 Resultados y Discusión.....	163
7.4 Bibliografía.....	173
8 CONTROL AMBIENTAL Y BIOLÓGICO DE UNA POBLACIÓN LABORALMENTE A ESTIRENO EXPUESTA.....	177
8.1 Introducción.....	179
8.2 Población laboral expuesta, toma de muestras y métodos analíticos.....	183
8.2.1 Población laboral expuesta.....	183
8.2.2 Toma de muestras.....	183
<u>Muestras ambientales.....</u>	183
<u>Muestras biológicas.....</u>	184
Muestras de orina.....	184
Muestras de aire exhalado.....	185
8.2.3 Métodos analíticos.....	185
<u>Determinación de la concentración ambiental de estireno.....</u>	185
<u>Determinación de los ácidos mandélico y fenilgloxílico en orina.....</u>	186
<u>Determinación de estireno en orina.....</u>	187
<u>Determinación de estireno en aire exhalado.....</u>	188
8.3 Control ambiental de la exposición a estireno.....	188
8.4 Control biológico de la exposición a estireno.....	196
8.4.1 Ácidos mandélico y fenilgloxílico en orina.....	198
8.4.2 Estireno en aire exhalado.....	210
8.4.3 Estireno en orina.....	217
8.4.4 Evaluación de los indicadores biológicos.....	226
8.5 Bibliografía.....	238
9 CONCLUSIONES.....	247

1

INTRODUCCIÓN

1 INTRODUCCIÓN

1.1 El estireno: uso, producción y exposición laboral

El estireno es un compuesto líquido a temperatura ambiente, incoloro o amarillento. Algunas de sus propiedades físicas y químicas se muestran en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1 Propiedades físico-químicas del estireno.

Fórmula molecular	$C_6H_5-CH=CH_2$
Peso molecular	104,15 gr/mol
Peso específico (25°C)	0,905 gr/cm ³
Punto de ebullición	145,2°C (760 mm Hg)
Presión de vapor	6,1 mm Hg (25°C)
Solubilidad	320 mg/l en agua Soluble en etanol

El estireno fue descubierto por Bonastre en 1831. Simon descubrió su propensión a polimerizar en 1839 después de exponerlo al aire. En 1867 Berthelot sintetizó el estireno haciendo pasar acetileno y varios productos aromáticos a través de un tubo de porcelana caliente.

Durante la Segunda Guerra Mundial, Estados Unidos comenzó un programa para la producción de gomas sintéticas; a partir de entonces se empezaron a desarrollar polímeros para cuya síntesis se emplea estireno.

La producción mundial de estireno creció desde menos de 30.000 toneladas en 1938 hasta 2,5 millones de toneladas en 1965. Entre 1965 y 1977 la producción mundial aumentó a un ritmo del 12% anual (1). Al comienzo de la década de los 90, el ritmo de crecimiento de la producción fue del 7%. En 1993 la producción mundial fue de 17,8 millones de toneladas (2). El estireno se produce en los cinco continentes; los principales productores son EEUU, Japón y los países de la Unión Europea.

La expansión en la producción del monómero fue el paso preliminar para la fabricación del poliestireno y otros copolímeros de estireno. En los años 30 el estireno se consumía principalmente en la industria de la goma sintética. En 1977, un 10% del estireno producido a nivel mundial se utilizó para fabricar goma de estireno-butadieno. En los últimos años la utilización del estireno se ha ampliado hacia campos tales como: producción de plásticos que contienen

estireno, resinas, recubrimientos y pinturas. La producción de poliestireno ha crecido desde unos pocos miles de toneladas en 1937 hasta unos 9 millones de toneladas en 1993. A partir de 1942, los plásticos reforzados y las resinas de poliéster insaturadas encontraron un nuevo campo de utilización en aplicaciones militares. La tecnología y las aplicaciones asociadas con los productos de plástico reforzado con fibra de vidrio se desarrollaron enormemente durante la década de los 50. En 1948, se introdujo en el mercado de los plásticos el copolímero acrilonitrilo-butadieno-estireno (ABS). Hasta la fecha no existe un uso industrial significativo del estireno basado en reacciones químicas distintas de las de polimerización o copolimerización.

En la actualidad, el estireno se emplea en la producción de polímeros y copolímeros, tales como poliestireno, ABS, estireno-acrilonitrilo (SAN), estireno-butadieno-látex (SB látex), estireno-butadieno (SBR), y una gran variedad de resinas. La principal aplicación del poliestireno es la fabricación de materiales para empaquetado. El poliestireno expandido se emplea como aislante en la construcción de viviendas y para equipos de refrigeración. El ABS encuentra aplicación en el sector de la automoción. Los productos de SB látex se emplean como recubrimiento de papel y cartón. En cuanto a la producción de resinas, aproximadamente un 5% del monómero de estireno producido en la actualidad se utiliza con este fin. El estireno se puede encontrar en concentraciones de hasta el 40% en las mismas. Estas resinas se utilizan en la fabricación de diversos productos de plástico reforzado con fibra de vidrio, tales como bañeras, embarcaciones, duchas, tanques, contenedores, cabinas y cascos. En la figura 1.1 se representan distintos productos de poliéster.

Al crecimiento en la producción y manipulación de estireno y sus derivados le ha acompañado, lógicamente, un aumento en el número de personas expuestas al mismo en su puesto de trabajo, por un lado, y un interés creciente en conocer cuales son las concentraciones de estireno que se alcanzan en el ambiente y los efectos de esta exposición sobre la salud de los trabajadores, por el otro. En las fábricas de estireno o de los polímeros que lo contienen, las concentraciones rara vez superan las 20 ppm (85 mg/m³), siendo lo normal exposiciones promedio en el tiempo no superiores a 5 ppm (21 mg/m³) (2). Es posible que las personas dedicadas al mantenimiento de estas plantas se encuentren expuestas, de manera ocasional, a niveles de concentración superiores.

El sector industrial en el que es mayor el riesgo de exposición a estireno, es el de la fabricación de los productos de poliéster reforzado con fibra de vidrio, especialmente en sectores como la construcción de embarcaciones y de

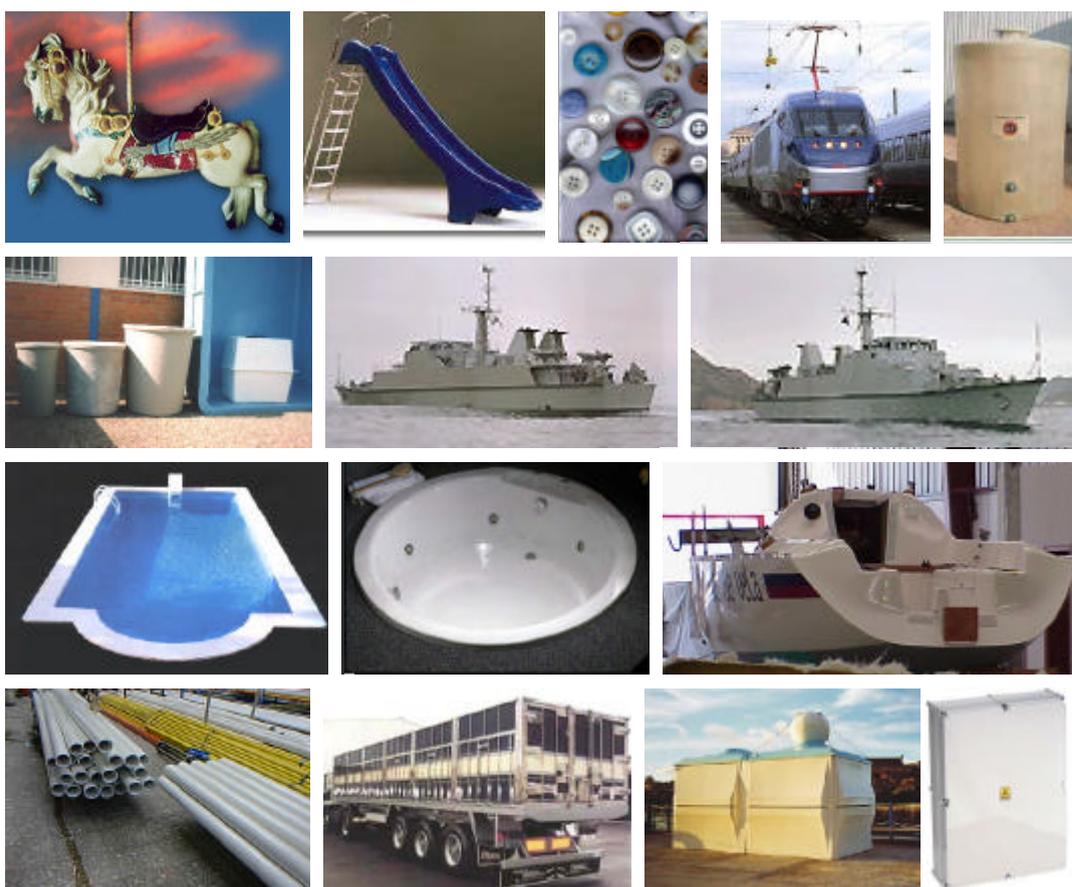


Figura 1.1 Productos fabricados de poliéster reforzado con fibra de vidrio.

grandes depósitos, donde se producen aplicaciones de resinas con alto contenido en estireno. La presencia de estireno en el ambiente se debe fundamentalmente a su evaporación cuando las resinas que lo contienen se extienden sobre la superficie del artículo que se está fabricando. El fenómeno de evaporación es tanto más considerable cuanto mayor es la pieza a construir. En momentos de gran exposición se ha llegado a medir niveles de concentración ambiental de varios cientos de ppm. La evolución del sector hace que con el paso de los años, los niveles de exposición medios vayan bajando (3,4), debido a dos razones fundamentales, por un lado, la mejora en el proceso de fabricación y por otro, el establecimiento de medidas higiénicas que no existían en los primeros años de fabricación de estos productos.

La industria de los plásticos reforzados ha tenido una evolución ininterrumpida desde su aparición. La sencillez en la fabricación de estos materiales, junto con la libertad de diseño y sus altas cualidades mecánicas, son sus mayores ventajas, lo que les permite sustituir con éxito a muchos otros materiales, en especial la madera y algunos metales. Desde el punto de vista de la fabricación, el desarrollo tecnológico asociado a estos materiales permite

producir desde pequeñas piezas en unos pocos segundos a grandes embarcaciones en unos pocos meses.

Durante muchos años, la práctica totalidad de estos materiales estaba constituida por laminados de fibra de vidrio y resinas de poliéster. A comienzos de la década de los 90, todavía el 90% de los plásticos de uso naval o industrial corresponde a esta composición (5).

Las resinas de poliéster forman un amplio grupo de polímeros obtenidos por esterificación de un dialcohol y un diácido y mezclados con un agente reticulante, constituido por estireno monomérico. Este disolvente líquido que se añade a la resina durante el proceso de fabricación y que puede agregarse posteriormente en cantidades variables para aumentar su fluidez, tiene la función principal de entrecruzar las cadenas moleculares del poliéster y permitir su polimerización (5,6) tal como se ilustra en la figura 1.2. El papel del estireno es

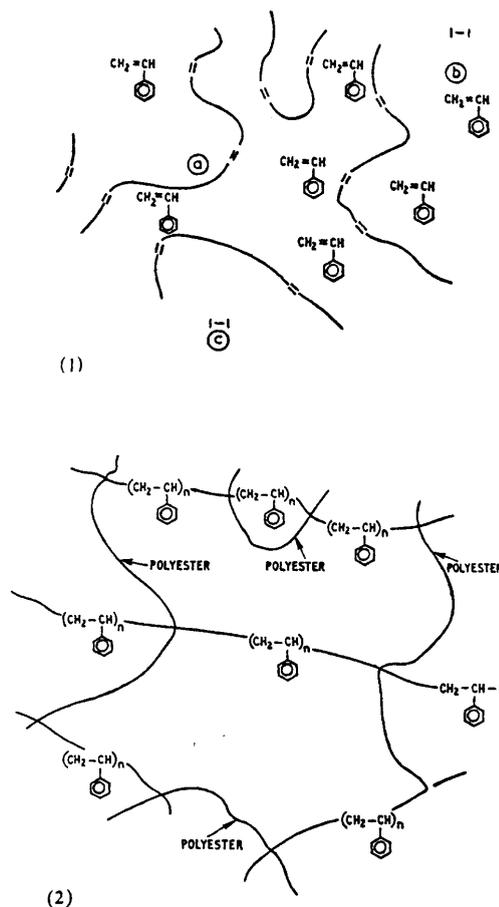


Figura 1.2 Papel del estireno en la polimerización.

- (1) Estructuras presentes en la resina de poliéster una vez preparada para la polimerización:
 - (a) moléculas de resina insaturada de bajo peso molecular
 - (b) moléculas de estireno
 - (c) moléculas de iniciador (catalizador)
- (2) Estructuras presentes en las resinas de poliéster curadas. Se produce el entrecruzado mediante una reacción de copolimerización por adición.

por tanto doble: como disolvente de la resina y como agente reticulante.

Los procesos de producción de piezas se basan en general en el esquema de la figura 1.3. En todos los casos, el proceso se inicia con la creación de un modelo a partir del cual se obtiene un molde (7). El molde se recubre con una cera y a continuación se aplica una primera capa de gel-coat, que es un barniz realizado a base de macromoléculas orgánicas pigmentadas y estireno, mezclados con un sistema catalítico que favorece la reacción de polimerización. El espesor de la capa de gel-coat oscila entre 0,5 y 0,6 mm llegándose en algunos procesos a espesores de 0,8 mm. Esta primera capa será finalmente la parte visible de la pieza fabricada. Cuando el gel-coat está completamente seco, se inicia la etapa de laminación.

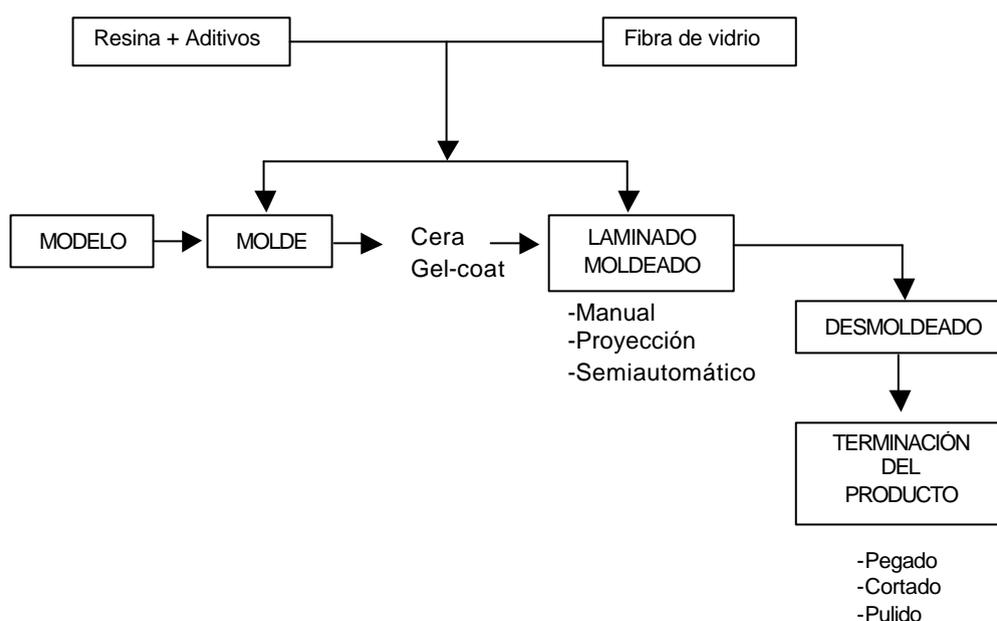


Figura 1.3 Esquema general de un proceso de fabricación de piezas de plástico reforzado.

Como se ilustra en la figura 1.3, para el laminado se debe preparar una mezcla o gel a base de resina, estireno y un sistema catalítico compuesto por "catalizador" y "acelerador". El agente catalizador es un peróxido orgánico (en la mayoría de los casos peróxido de metiletilcetona) cuya misión consiste en generar radicales libres para la reacción de adición. Como acelerantes se emplean normalmente, sales de níquel o cobalto o bien aminas aromáticas

terciarias, que permiten que la reacción transcurra a temperatura más baja de la que se alcanzaría en su ausencia. Las proporciones de catalizador pueden variar entre un 1 y un 2% en peso y las de acelerador entre el 0,1 y el 1% en volumen (5,6).

Se define el tiempo de gel como aquel que transcurre desde la adición del catalizador hasta que la resina adquiere una consistencia gelatinosa. Este tiempo varía en función de la temperatura y la dosificación del catalizador y acelerador. Una vez obtenido el gel, se procede generalmente al laminado, que es el proceso mediante el que se depositan capas sucesivas de resina y fibra de vidrio. Para otro tipo de piezas cuya característica común sería un tamaño menor, se utiliza el moldeado, que consiste en la inyección de la mezcla en un molde. Las técnicas de elaboración de piezas se pueden clasificar en los siguientes grupos (8):

-Laminación manual: consiste en depositar la resina, de forma manual o mediante máquinas, sobre una malla de fibra de vidrio donde se distribuye utilizando un cepillo o un rodillo. Estas herramientas, además de distribuir el gel, servirán para eliminar las burbujas de aire que podrían quedar ocluidas en el material. En la figura 1.4 se ilustra este modo de trabajo.

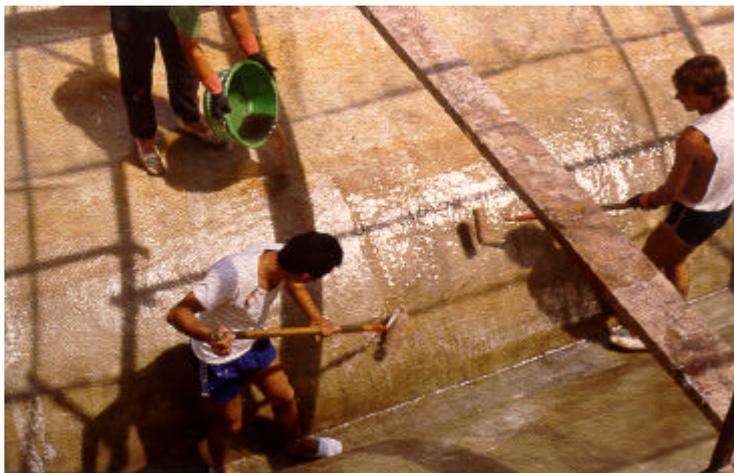


Figura 1.4 Proceso de laminación manual.

-Laminación mediante proyección: esta técnica utiliza una máquina que va cortando la fibra en pequeños trozos y, a continuación, mediante el uso de una

pistola aplica, de forma simultánea, los trozos de fibra generados y el gel sobre el molde.

-Procesos semiautomáticos: Se clasifican en este grupo técnicas como moldeado mediante uso de aire, moldeado por inyección o moldeado con planchas metálicas, en las que no hay operaciones manuales de aplicación del gel.

El proceso de polimerización o curado genera una fuerte reacción exotérmica, que puede alcanzar temperaturas de hasta 200°C. Sin embargo en los laminados de superficie la temperatura es mucho más baja debido a la mayor disipación del calor.

La etapa final consiste en el desmoldeo y posterior terminación del producto, utilizándose para ello técnicas como pulido, pegado y cortado según los casos.

Siguiendo este esquema de producción se fabrica una gran variedad de artículos y objetos tales como: muñecos y otros elementos para carruseles de feria, lanchas, barcas, piraguas, sanitarios (piscinas, bañeras), depósitos y recipientes en general, tuberías (para saneamiento, abastecimiento de aguas, residuos industriales, industria química, etc.), elementos de carrocería (para coches, autobuses, trenes, autocaravanas, motocicletas, etc.), carcasas para pequeña maquinaria agrícola, carcasas para pantallas luminosas y techos translúcidos, armarios de distribución de electricidad y accesorios de industria eléctrica (interruptores, aislantes, etc.), postes (para alumbrado, conducción de energía eléctrica o de telefonía), recipientes para baterías de automoción de tamaños especiales, mobiliario de jardinería, varillas para estores de cortinas, etc.

En el periodo 1992-1993 el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo efectuó un estudio sobre la situación en nuestro país en relación a la exposición laboral a estireno (9). Los objetivos de este estudio fueron conocer las empresas que desarrollaban estos procesos, el número de trabajadores expuestos a estireno, los niveles de exposición ambiental personal de estos trabajadores y el nivel tecnológico de los procesos utilizados. Se evaluó a 669 trabajadores pertenecientes a 98 empresas. En este estudio se puso en evidencia que de entre todas las tareas que se llevan a cabo en el proceso de fabricación, los niveles de exposición a estireno son mayores en la tarea de laminación y, en mayor medida, en la laminación por proyección. Los valores de concentración media medidos fueron de 176 mg/m³ en el caso de la laminación manual y de 253 mg/m³ en la laminación por proyección. Estos

valores representan la media geométrica de las concentraciones determinadas para los trabajadores que realizaban estas tareas, 414 en el primer caso y 79 en el segundo (9,10). En estudios semejantes llevados a cabo en otros países se ha encontrado de igual forma que los niveles de concentración ambiental más elevados están asociados a las tareas de laminación (1,8).

La gran cantidad de productos y objetos que se fabrican en la actualidad con estos materiales proporciona una idea de la importancia de este sector industrial en el mundo moderno, lo que conlleva, como ya se mencionó anteriormente, que el grupo de trabajadores laboralmente expuestos sea numeroso. Los niveles de concentración ambiental estarán determinados principalmente por el proceso de aplicación, la cantidad de resina consumida y la eficacia del sistema de ventilación del lugar de trabajo. Es previsible que los niveles de exposición sean elevados en las tareas de laminación. Los efectos sobre la salud del estireno, de los que se hablará más adelante, hacen necesario el seguimiento, estudio y mejora de los procesos de fabricación de estos materiales con el fin de proteger a los trabajadores expuestos. Además en determinadas tareas asociadas básicamente a la limpieza de herramientas y moldes, se emplean otros disolventes como son la acetona o el tolueno, que también pueden tener efectos sobre la salud de los trabajadores.

1.2 Absorción, metabolismo y eliminación de estireno

La principal ruta de entrada al organismo del estireno que está presente en el ambiente laboral es la vía inhalatoria (11). Del estireno que se inhala y entra a los pulmones se absorbe un elevado porcentaje, entre el 60% y el 94% según los distintos autores (12-14). La entrada del estireno presente en el ambiente a través de la piel es despreciable y sólo será significativa si se produce un contacto prolongado entre el estireno líquido y la piel (15). Este hecho ha quedado recientemente demostrado en un estudio (16) donde se compara el nivel de estireno absorbido por la piel con el absorbido por inhalación en las siguientes situaciones: cuando se utiliza protección individual completa, protección de la vía inhalatoria, protección de la vía dérmica y desprotección. Las conclusiones indican que el uso de equipos de protección personal que aislen completamente no proporciona un mayor nivel de protección que el uso de equipos que protejan sólo las vías respiratorias.

El ser humano elimina el estireno presente en su organismo principalmente mediante su metabolización. Un esquema simplificado de la ruta metabólica que sigue el compuesto se muestra en la figura 1.5.

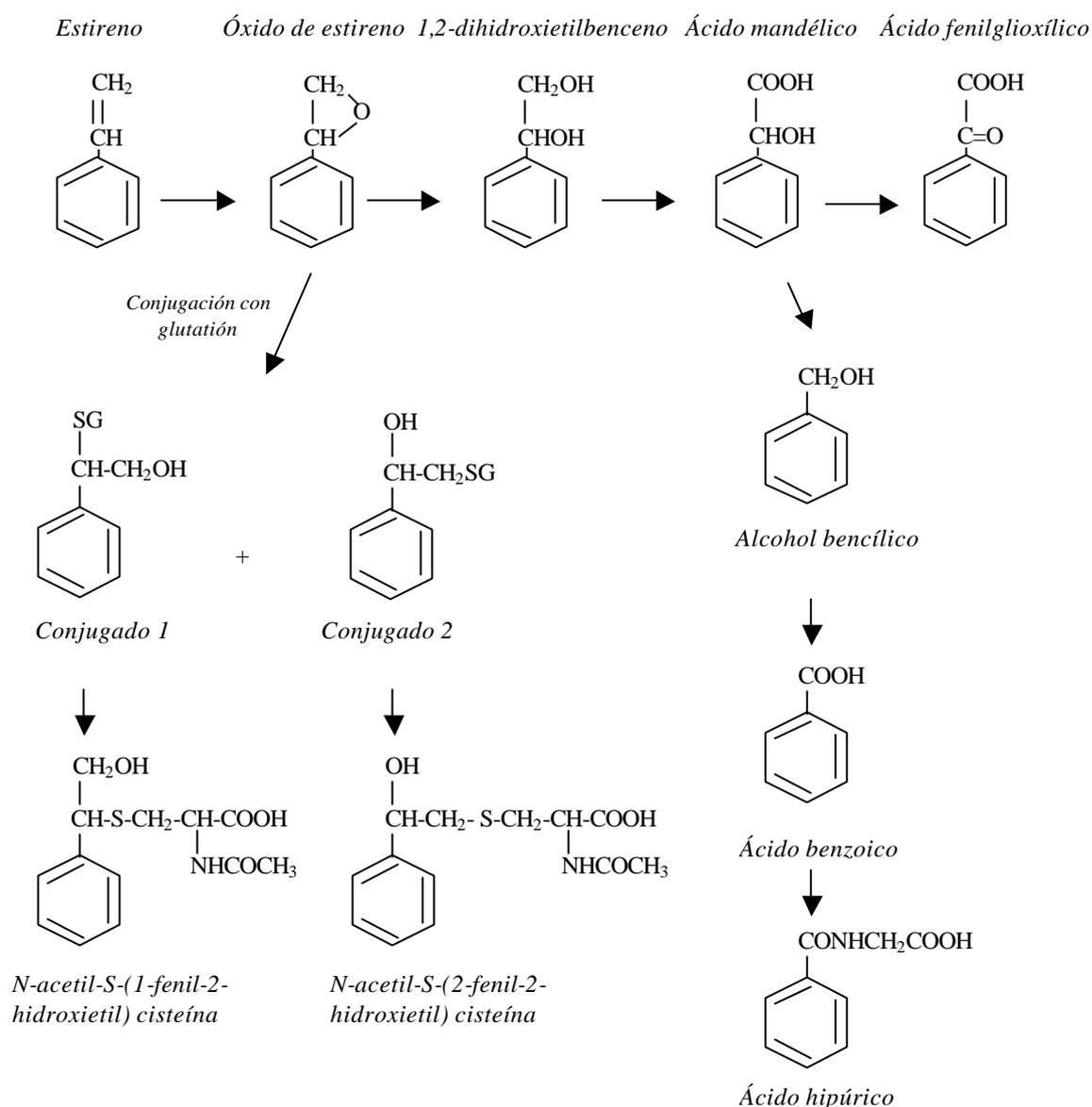


Figura 1.5 Esquema simplificado de la ruta metabólica de estireno.

El camino principal de metabolización del estireno está basado en su oxidación. La enzima hepática citocromo P-450 cataliza la oxidación inicial de estireno a óxido de estireno (SO) que presenta dos formas enantioméricas (R-SO y S-SO); este producto intermedio, que tiene naturaleza electrofílica, es capaz de formar enlaces covalentes con macromoléculas y se le considera

responsable directo de algunos de los efectos tóxicos derivados de la exposición a estireno. El óxido de estireno se hidrata en presencia de la enzima epóxido hidrolasa para formar un glicol (1,2-dihidroxiethylbenceno). Este último se transforma en ácido mandélico, el cual puede transformarse a su vez tanto en ácido fenilglicólico -siguiendo la ruta oxidativa- como en alcohol bencílico, mediante la pérdida de dióxido de carbono. La ruta del alcohol bencílico donde éste se oxida a ácido benzoico, da lugar finalmente al ácido hipúrico (17,18). Únicamente si se produjese una exposición continuada a concentración ambiental de estireno superior a 150 ppm, la concentración de ácido mandélico sería suficiente para favorecer su descarboxilación (13).

Aunque no es la vía principal hay una ruta metabólica alternativa que conduce también a la eliminación del SO mediante su conjugación con glutatión. Como consecuencia de esta conjugación se obtienen los ácidos mercaptúricos; la cantidad que se forma de estos metabolitos representa un porcentaje inferior al 1% respecto a la dosis recibida (19).

A concentraciones de exposición a estireno en aire habituales en ambientes de trabajo (hasta 100 ppm), la ruta metabólica principal de estireno sigue una cinética de primer orden y la relación entre el grado de exposición y los niveles biológicos de los metabolitos es lineal. Sin embargo, a concentraciones de exposición elevadas, entre 100 y 200 ppm, esta ruta metabólica se satura, por lo que la concentración del compuesto en sangre y tejidos aumenta espectacularmente, lo que hace que la relación entre exposición y los niveles biológicos de los metabolitos deje de ser lineal (18,20).

Aproximadamente el 95% del estireno absorbido en los pulmones sigue el proceso de metabolización descrito y se excreta por vía urinaria siendo el ácido mandélico (MA) el mayoritario, el 85% del estireno absorbido se excreta como tal, seguido por el ácido fenilglicólico (PGA), 10% (20,21). La eliminación del estireno a través de los pulmones es inferior al 3% (22,23) y por último, una pequeña cantidad de estireno se elimina sin metabolizar en otros fluidos como orina o sudor (24).

La eliminación pulmonar del compuesto se considera que transcurre en dos etapas (25). En la primera, que dura desde el final de la exposición hasta unos 50 minutos después, se produce una rápida disminución en la concentración de estireno en el aire exhalado. La segunda etapa, de decaimiento más lento, puede llegar a superar las 20 horas de duración. Se han encontrado niveles de estireno en aire exhalado de personas expuestas hasta 3 días después de

finalizar la exposición lo cual puede deberse a la eliminación del compuesto previamente acumulado en tejido graso (23).

Tanto la absorción como las posteriores etapas de metabolización, acumulación y eliminación de estireno del organismo humano pueden verse afectadas por situaciones de diversa índole, como son la carga de trabajo, las condiciones ambientales de temperatura y humedad y la presencia de otros contaminantes.

El aumento del ejercicio físico o carga de trabajo supone una ligera disminución de la retención de estireno en cada inhalación, debida al aumento de la velocidad de ventilación. Por el contrario, la velocidad de entrada aumenta con el ejercicio debido al incremento en el número de inhalaciones (18). En ensayos con voluntarios, conforme aumentó el ejercicio se encontró un aumento de las concentraciones de estireno alveolar, arterial y venoso, o lo que es lo mismo, se produjo un incremento en la velocidad de entrada del compuesto (26).

En cuanto a la coexposición a otros agentes químicos junto con estireno, los trabajos se centran en etanol y disolventes, como acetona o tolueno, que habitualmente acompañan al estireno en la atmósfera de trabajo en el sector de los plásticos reforzados con fibra de vidrio.

Cuando se han estudiado los efectos del consumo de alcohol sobre el metabolismo de estireno (27,28) se ha encontrado que la ingestión de etanol provoca la inhibición del metabolismo del estireno, lo cual produce un retraso en la excreción de ácido mandélico (MA). La concentración de 1,2-dihidroxietilbenceno en sangre aumenta mientras que la de MA en orina disminuye; esto significa que cuando se consume alcohol el metabolismo hepático actúa preferentemente en la oxidación del etanol en detrimento de la formación de MA a partir del glicol. La exposición crónica a etanol podría alterar el metabolismo de estireno, posibilitándose otras vías metabólicas alternativas (27).

Se ha demostrado que el tolueno y el tricloroetileno inhiben la metabolización de estireno en animales cuando se les suministran en grandes cantidades; sin embargo cuando se administran simultáneamente con estireno, y en concentraciones semejantes a la de éste, otros disolventes no se producen alteraciones importantes (29). Esto sucede para un grupo importante de disolventes como tolueno, acetona, n-hexano, acetato de etilo, etc.

Igualmente, cuando se estudió la coexposición a estireno, tolueno y metanol se encontró una gran semejanza entre las concentraciones de cada uno de los disolventes en aire exhalado y orina respecto a las que se encuentran habitualmente en exposiciones aisladas a cada uno de los compuestos (30).

Existe una gran controversia respecto a la influencia de la acetona sobre el metabolismo de estireno. Por un lado, la exposición simultánea a estireno y acetona se ha relacionado con un incremento en los niveles de citocromo P-450 (31). Se ha encontrado una interacción positiva entre estireno y acetona cuyo efecto sería la menor excreción urinaria de MA y PGA y la consiguiente acumulación de los metabolitos durante la semana de trabajo (32). También se ha descrito que, en presencia de aire con concentración de acetona elevada, la correlación entre la concentración ambiental de estireno y sus metabolitos en orina empeora, lo cual se atribuye a una posible mayor variabilidad interindividual en el metabolismo del estireno en presencia de acetona (33). Sin embargo otros autores siguen recomendando el uso de los metabolitos para el control de la exposición a estireno en casos de coexposición con acetona (34-36) dando por hecho que la exposición a esta última no influye sobre la metabolización del estireno.

1.3 Efectos tóxicos del estireno

El estireno ejerce su efecto tóxico principalmente sobre las membranas mucosas, los ojos y el sistema nervioso central y periférico. Los efectos sobre la salud, debidos a la exposición laboral a estireno, incluyen depresión del sistema nervioso central, problemas de concentración, debilitamiento muscular, cansancio, náuseas, vómitos, anorexia y astenia. Igualmente hay información sobre irritaciones de las vías respiratorias superiores, de los ojos y de la piel (17-20).

Los efectos neurológicos son probablemente la mayor evidencia de la toxicidad del estireno. En efecto, el estireno es especialmente dañino sobre los sistemas nervioso central y periférico, hecho que ha sido corroborado por estudios epidemiológicos y clínicos (20). Se ha encontrado que exposiciones de media y larga duración a disolventes en trabajadores del sector de los plásticos reforzados con fibra de vidrio produce síntomas de neuropatías periféricas (37).

Recientemente, se ha relacionado la exposición a estireno con efectos neurotóxicos que repercuten en el sistema visual. Los daños afectan a la

discriminación del color (37) y dan lugar a pérdidas en la capacidad de contraste (38). Se ha encontrado una correlación entre la pérdida en la capacidad de discriminación de los colores y la cantidad de MA presente en orina (39).

También se ha descrito que la exposición a niveles moderados o bajos de estireno en ambientes industriales causa alteraciones en el sistema nervioso central que se pueden detectar mediante la realización de tests otoneurológicos (40). En trabajadores expuestos de manera constante durante un mínimo de 5 años a estireno se encontró una reducción del límite superior de audición (41).

Otro tipo de estudios relacionan la exposición a estireno con un deterioro de la habilidad en el manejo del vocabulario, el cual podría deberse bien a un efecto tóxico directo, bien a un efecto narcótico del estireno que generaría un grado de somnolencia que podría predisponer a los que lo padecen a no participar en actividades sociales, culturales o intelectuales, lo que se traduciría en la merma de las habilidades en el uso del lenguaje (42). También se ha encontrado que la exposición a estireno puede alterar el modo de comportamiento y más explícitamente favorecer un comportamiento agresivo u hostil (43).

Cuando se estudian los efectos tóxicos de cualquier agente químico, se pone un interés especial en evaluar la mutagenicidad, carcinogenicidad y efectos sobre la reproducción. Esto se debe a la trascendencia para la salud que tendrían los hallazgos que vincularan la exposición con estos efectos. La relación entre estos efectos tóxicos y la exposición a estireno es también objeto de estudio; sin embargo, factores de confusión tales como la presencia de otros contaminantes químicos y los hábitos personales de los trabajadores, por ejemplo el consumo de tabaco, dificultan el establecimiento de una relación directa exposición - efecto.

La acción mutágena del estireno se relaciona con la posibilidad de que el 7,8-óxido de estireno o sus aductos actúen sobre la hemoglobina y el ADN. Sin embargo, el óxido de estireno parece ser débilmente reactivo con ADN (44). Cuando se estudiaron los linfocitos de sangre periférica en busca de cambios en cromátidas hermanas en un grupo de laminadores y otro de control, la frecuencia media de cambios fue superior para los primeros tanto si eran fumadores como no fumadores (45,46). A pesar de los hallazgos de este estudio, en una revisión reciente se concluye que no hay evidencias

convincientes de que la exposición a estireno produzca aberraciones cromosómicas, cambios en cromátidas hermanas o micronúcleos en la gran cantidad de trabajos llevados a cabo sobre personas expuestas a estireno en el lugar de trabajo (47). Los estudios con animales tampoco son concluyentes.

Respecto a la carcinogenicidad, la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC) ha llevado a cabo un estudio que trata de encontrar relaciones entre la mortalidad y la exposición a estireno. La primera fase del estudio se realizó en 6 países (Dinamarca, Finlandia, Italia, Noruega, Suecia y Reino Unido). En total se estudiaron 40.683 trabajadores de la industria de los plásticos reforzados. Entre la población estudiada no se hallaron mayores niveles de mortalidad, ni de cáncer, ni específicamente de cáncer de pulmón o de piel (48,49). El IARC considera estos datos como "evidencias inadecuadas" de efectos carcinogénicos del estireno en humanos y lo clasifica en el grupo 2B, es decir, posible carcinogénico en humanos. Por otra parte los estudios desarrollados con animales son poco clarificadores. La Comisión Alemana para la investigación de los efectos para la salud de los compuestos químicos en el lugar de trabajo, clasifica al estireno en la categoría 5, es decir, se trata de una sustancia con potencial carcinogénico y genotóxico, pero su potencia se considera tan baja que exponiéndose a concentraciones inferiores al valor MAK (valor de referencia ambiental en Alemania), no se espera una contribución significativa al riesgo de cáncer en humanos (50).

En lo referente al sistema reproductivo, algunos estudios sobre mujeres laboralmente expuestas a niveles altos de concentración de estireno encontraron que la exposición podría ser la causante de nacimientos de niños de bajo peso y del aumento del riesgo de abortos espontáneos. Sin embargo, estos resultados no son del todo definitivos debido a que en dichos estudios la exposición a estireno iba acompañada por la exposición a otros disolventes (20).

Por último, también se han realizado varios trabajos cuyo objetivo ha sido encontrar la posible relación entre la exposición a estireno y el aumento en la mortalidad (49-52), no encontrándose relación directa entre ambos.

1.4 Evaluación y control de la exposición a contaminantes químicos

La presencia de contaminantes químicos en el medio ambiente de trabajo puede conducir a que éstos ejerzan su acción nociva sobre la salud de los trabajadores. La probabilidad de que esto ocurra, la intensidad o la extensión de los efectos adversos sobre la salud dependerá, además de otros factores, de la magnitud de la exposición, que a su vez es función de la concentración del contaminante en el ambiente y de la duración de la propia exposición.

Para preservar la salud de los trabajadores se deberá actuar eliminando la exposición si es posible, o reduciéndola de modo que se evite la aparición de efectos nocivos para la salud. Para la reducción y control de la exposición será necesario por tanto conocer o establecer unos niveles de concentración ambiental máximos permisibles y vigilar para que no se superen.

Ya que en los ambientes laborales la vía principal de entrada de los contaminantes, especialmente de los compuestos orgánicos volátiles, es la pulmonar, la cantidad de tóxico que entra al organismo está relacionada directamente con la abundancia del tóxico en el aire que se inhala. Por este motivo, inicialmente el control de la exposición se centró en la determinación de la concentración del tóxico en el ambiente. Sin embargo, más recientemente se está utilizando el "control biológico", el cual se basa en la medida de algún índice biológico que se modifica como consecuencia de la exposición.

La principal diferencia entre ambos modos de control es que, mientras el ambiental nos dará una idea de la dosis externa recibida, el biológico lo hará de la cantidad absorbida por el organismo o dosis interna. Necesariamente ambos tipos de control están íntimamente ligados como también lo están la dosis externa e interna. Ahora bien, el control ambiental proporciona sólo una estimación de la dosis recibida, porque lo que se determina es la concentración en el aire y no la cantidad inhalada (ésta se puede deducir a partir del volumen que por término medio respira un individuo en la jornada laboral, pero sólo de forma aproximada). La cantidad absorbida es una fracción de la cantidad inhalada.

El control biológico tiene una relación mucho más directa con la cantidad absorbida a través de distintas vías de penetración simultáneas ya que consiste en la estimación de la cantidad de contaminante absorbida a través de las distintas vías de entrada, mediante la determinación del mismo o de sus metabolitos específicos en fluidos biológicos, secreciones, excreciones, aire exhalado, o tejidos.

El objetivo primario del control ambiental y del control biológico es la estimación de la "dosis a que está expuesto el individuo". En el caso del control ambiental, se pretende estimar la dosis de sustancia que ha entrado en el organismo. El control biológico trata de estimar la dosis absorbida. Ambas estimaciones son a su vez una estimación de la dosis en los órganos diana, y en definitiva de los receptores. El objetivo último de ambas técnicas es la valoración del riesgo para la salud del trabajador, lo que implica un pleno conocimiento de las relaciones exposición-efecto/respuesta para el contaminante en cuestión.

1.4.1 Control ambiental

La evaluación de la exposición a contaminantes químicos se ha venido realizando tradicionalmente mediante el uso de criterios de valoración ambientales, es decir, determinando la concentración del xenobiótico -la sustancia extraña que entra al organismo se denomina de este modo- en aire, lo que junto con el tiempo durante el cual el trabajador se encuentra inhalando este aire, permite estimar la dosis externa recibida a lo largo de la jornada laboral. En este tipo de evaluación solo se tiene en cuenta la vía de entrada respiratoria. Los resultados de esta toma de muestra ambiental deben compararse con valores de referencia. Estos valores de referencia, de los que se hablará extensamente más adelante, se han desarrollado con la intención de velar por la salud de las personas laboralmente expuestas y, aunque se fijan como límites máximos diarios admisibles, para su establecimiento se tiene en cuenta la posibilidad de que la exposición se extienda durante toda la vida laboralmente útil de cada individuo.

La toma de muestras es la primera etapa que se ha de llevar a cabo en cualquier tipo de control. Hay que tener en cuenta que para que un procedimiento de toma de muestra sea válido debe ser capaz de proporcionar una muestra representativa y, además, debe ser adecuado tanto a la naturaleza y estado físico del contaminante como al procedimiento de análisis que se aplicará a la muestra. Así pues, cuando se desarrolla una estrategia de

toma de muestras particular, se debe comenzar por una revisión de los muestreadores específicos y los métodos analíticos disponibles para el contaminante de interés.

Organizaciones de prestigio internacional como el National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), la Occupational Safety and Health Administration (OSHA), y la American Society For Testing and Materials (ASTM) y nacionales como el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT) publican colecciones de métodos de muestreo y análisis para contaminantes químicos. Se debe seleccionar cuidadosamente la técnica de muestreo y el método analítico más adecuados para cada aplicación en base al estudio del ambiente de trabajo y del comportamiento químico del contaminante o grupo de contaminantes a muestrear.

Una forma de clasificar los diferentes tipos de toma de muestra para gases y vapores es atendiendo a su duración, se puede encontrar dos tipos de muestras, las integrales y las puntuales (53).

Las muestras integrales se basan en el paso de un volumen conocido de aire "contaminado" durante un periodo de tiempo determinado (puede abarcar toda la jornada de trabajo) a través de un medio adsorbente capaz de retener los contaminantes de interés. El análisis del contaminante retenido permitirá el cálculo del nivel medio de concentración existente durante todo el tiempo que dure la toma de muestra.

Las muestras puntuales se basan en la recogida directa de la mezcla de aire-contaminante en un dispositivo que puede ser una bolsa, jeringa, matraz, adsorbente, durante un corto intervalo de tiempo. Por tanto, la recogida de este tipo de muestras permite conocer la concentración atmosférica en un momento dado.

Cuando se quiere obtener información acerca de todo el periodo de exposición se utiliza la toma de muestras integrales. Es evidente que las concentraciones de contaminante pueden variar a lo largo del tiempo según la tarea que se esté realizando. Las mediciones instantáneas (muestras puntuales), no reflejan la exposición media del trabajador durante la totalidad de la jornada y podrían no recoger altas o bajas exposiciones intermitentes. Sin embargo, cuando se conoce muy bien el proceso industrial, puede interesar realizar mediciones puntuales en aquellos momentos en que se sospecha que pueda haber valores de concentración ambiental elevados.

Cuando el objetivo de la toma de muestra es determinar la exposición personal, se utilizan los muestreadores integrales. De esta manera los resultados se pueden comparar con los valores de referencia. La toma de muestras integrales puede realizarse mediante dos técnicas alternativas que son el muestreo activo o el muestreo pasivo.

El muestreo activo es la técnica mayoritariamente utilizada por los métodos publicados por la OSHA, NIOSH e INSHT. Está basado en la captación de los contaminantes presentes en el ambiente, utilizando para ello una bomba de aspiración que fuerza el paso de aire contaminado a través de un dispositivo de retención apropiado. Estos dispositivos pueden ser tubos adsorbentes, filtros tratados o "impingers" que contengan un medio líquido. Para la toma de este tipo de muestras es importante que la duración y el caudal se elijan de forma que no se supere la capacidad del medio de retención. La relación entre la masa de contaminante analizada y el volumen medido de aire contaminado que pasó por el mismo, determinará la concentración del contaminante en aire. Hay que tener también presente la sensibilidad del método analítico y la concentración esperada del contaminante de interés. Es siempre esencial que la duración de la toma de muestra y el caudal se midan con precisión. De nada sirve emplear posteriormente un método analítico altamente preciso si la toma de muestras no se lleva a cabo con suficiente rigor. Por tanto, para esta técnica de muestreo es un factor clave la calibración del caudal de la bomba de aspiración, ya que este hecho es el que permitirá conocer de forma precisa el volumen captado.

El principal requerimiento para una bomba de aspiración será que sea capaz de mantener constante su caudal durante todo el periodo de muestreo. Para comprobar que esto es así la bomba se calibra antes y se verifica después de la toma de muestra. En la norma UNE-EN 1232: 1997 se especifican los requisitos que deben cumplir las bombas para muestreo personal de agentes químicos (54).

En cuanto a los medios para la recogida de muestras, de entre los mencionados, el más habitualmente elegido para gases y vapores suele ser el empleo de tubos rellenos de adsorbentes sólidos. Éstos se prefieren a los otros sistemas de captación debido a que facilitan enormemente la captación de la muestra y su transporte. Por otro lado, la propia adsorción del contaminante en un soporte sólido es un proceso de concentración y este hecho facilita el análisis posterior. Estos tubos adsorbentes suelen tener dos secciones que, posteriormente, se analizarán por separado. Cuando el contaminante aparece

retenido en la segunda, que es la más alejada de la entrada de aire, puede suponerse que la primera sección se ha saturado. Los tubos están rellenos con cantidades de adsorbente que oscilan entre 200 y 600 mg, con granulometría de 20/40 mallas. En el caso de vapores orgánicos el carbón activo es el más utilizado y los caudales de aspiración recomendados varían entre 200 y 500 ml/min. Los requisitos que deben cumplir estos sistemas de toma de muestras para su aplicación en el ámbito laboral se encuentran recogidos en la norma UNE-EN 1076: 1997 (55).

El hecho de que la mayoría de los métodos publicados por organismos reconocidos en control del ambiente de trabajo se basen en el uso de sistemas activos hace que exista toda la información necesaria para llevar adelante una evaluación de la exposición basada en el empleo de los mismos. Sin embargo, el muestreo activo presenta ciertos inconvenientes, tales como que el equipo requerido es aparatoso y puede incomodar en la realización del trabajo al personal muestreado; por otro lado, las bombas de aspiración utilizan baterías y es posible que con el paso del tiempo se vuelvan incapaces de mantener los caudales fijados durante todo el tiempo que dura la toma de muestra, además han de ser calibradas y los procedimientos de calibración previa y verificación posterior requieren de equipamiento adicional y bastante tiempo. En la figura 1.6 se muestra un sistema para muestreo activo basado en el empleo de tubos rellenos de adsorbente.



Figura 1.6 Sistema de muestreo dinámico.

En los años 70, Palmes y Gunisson desarrollaron los primeros dispositivos para el muestreo pasivo (56). El muestreo pasivo consiste en la recogida sobre un lecho adsorbente de los gases o vapores del ambiente, a velocidad controlada por el proceso físico de la difusión molecular, a través de una capa estática de aire o por permeación a través de una membrana sin que en ninguno de los casos se provoque el movimiento activo del aire a través del muestreador, es decir, sin necesidad de utilizar una bomba de aspiración. Los muestreadores difusivos se basan en el movimiento de las moléculas del contaminante hacia el medio de retención debido a un gradiente de concentraciones que, en condiciones de concentración constante, se puede definir utilizando la primera ley de Fick sobre la difusión. En la figura 1.7 se representa esquemáticamente un

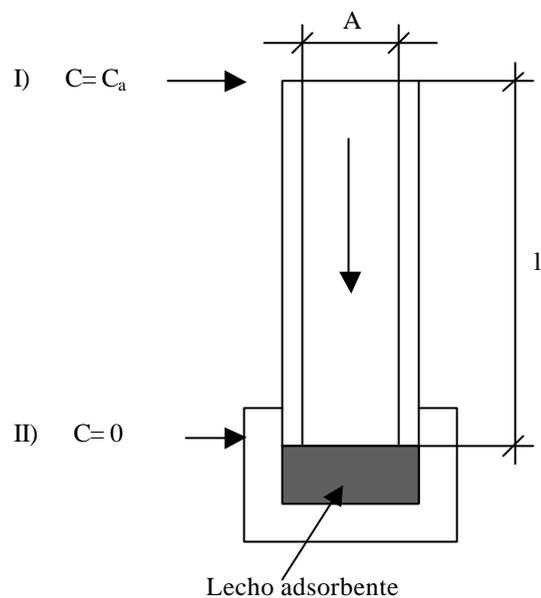


Figura 1.7 Elemento de captación por difusión.

elemento de difusión sencillo que consiste en un tubo conectado a un pequeño recipiente que contiene el lecho adsorbente. Cuando este elemento se expone a un ambiente contaminado de concentración ambiental C_a , se genera un gradiente de concentraciones entre los puntos I y II. En I, la concentración en aire del contaminante sería la concentración ambiental C_a , y en II, esta concentración se puede considerar nula, puesto que las moléculas que llegan a la interfase aire-adsorbente, quedarán inmediatamente fijadas al adsorbente.

La diferencia de concentraciones genera un flujo molecular que tiende a igualar las concentraciones entre ambos puntos y que será continuo si se mantiene constante el gradiente. En este caso, si la concentración ambiental se mantiene constante, también se puede considerar constante el gradiente, puesto que la pequeña masa de contaminante difundida no va a modificar su concentración ambiental y la concentración en la interfase aire-adsorbente será nula mientras no se sature el adsorbente.

La primera ley de Fick, aplicada al diseño de la figura 1.7, permite determinar teóricamente y en condiciones estacionarias este flujo, mediante la expresión simplificada:

$$q_d = D_a \times \frac{A}{l} \times C_a \quad \text{Eq 1.1}$$

donde:

q_d es el flujo másico del componente que difunde (ng/min)

D_a es el coeficiente de difusión (cm²/min)

l es la longitud de difusión (cm)

A es la sección de difusión (cm²) y

C_a es la concentración ambiental (mg/m³)

Básicamente el empleo de los muestreadores difusivos requiere conocer el coeficiente de difusión, D_a , que es característico para cada compuesto. El coeficiente de difusión de una especie química puede ser determinado de forma experimental o teórica.

La sección y longitud de difusión (A y l en la ecuación 1.1) son datos característicos de la geometría del muestreador.

El flujo másico del componente puede expresarse también como

$$q_d = \frac{m_a}{t} \quad \text{Eq 1.2}$$

donde m_a representa la masa retenida del agente químico durante el periodo de muestreo, t .

Igualando las ecuaciones 1.1 y 1.2 se obtiene la expresión:

$$\frac{m_a}{t} = D_a \times \frac{A}{l} \times C_a \quad \text{Eq 1.3}$$

a partir de la cual se despeja la concentración ambiental de la sustancia captada, obteniéndose la expresión:

$$C_a = \frac{m_a}{t \times D_a \times \frac{A}{l}} \quad \text{Eq 1.4}$$

Los términos D_a , A y l , que son constantes para cada contaminante y cada muestreador, pueden agruparse en:

$$U = D_a \times \frac{A}{l} \quad \text{Eq 1.5}$$

El término U tiene dimensiones de flujo volumétrico y, por analogía con los sistemas activos de captación recibe el nombre de velocidad de captación "sampling rate" o caudal de muestreo.

La concentración ambiental de un contaminante podrá determinarse pues, conociendo la masa recogida por el muestreador, el tiempo durante el cual se ha recogido dicha masa y el término U , tal como describe la ecuación siguiente:

$$C_a = \frac{m_a}{t \times U} \quad \text{Eq 1.6}$$

Según la ecuación 1.5 la velocidad de captación $-U-$ depende de las características geométricas del muestreador $-A/l-$ y de la difusividad del compuesto en aire $-D_a-$. Así planteado, dicho parámetro podría calcularse

teóricamente, pero en general es preferible proceder a su determinación experimental debido a que la disponibilidad de coeficientes de difusión experimentales es limitada y, a veces, los datos publicados para un mismo compuesto por fuentes diferentes presentan discrepancias significativas.

Para la determinación experimental de U es preciso conocer qué variables le afectan y en qué medida lo hacen. Por tanto, se debe someter cada muestreador pasivo a un proceso de validación en el que se determina el valor de U para cada pareja muestreador-contaminante, bajo una variedad de condiciones ambientales (concentración del contaminante, temperatura, duración del muestreo) y se evalúan aspectos como la eficacia de desorción, el tiempo de almacenamiento o la difusión reversa.

Para evaluar la influencia de las condiciones ambientales y los aspectos mencionados sobre el valor de U existen distintos protocolos de validación para muestreadores pasivos que incluyen estas comparaciones (57-59). El INSHT estableció en 1991 un protocolo de validación de muestreadores pasivos por difusión (57). Más tarde, en 1995, se publicó la norma UNE-EN838 1995 que especifica los requisitos y procedimientos de ensayo que se exigen dentro de la Unión Europea a los sistemas difusivos de muestreo ambiental para su aplicación en el ámbito laboral (58).

En los ambientes laborales, la concentración de un contaminante no es constante, siendo frecuente la alternancia de intervalos de mayor exposición con etapas en las que existen bajas concentraciones de contaminante. Se ha comprobado que los muestreadores son igualmente útiles en condiciones no estacionarias (60,61), y que el análisis de la masa recogida permitirá conocer la concentración media de todas las que se dieron durante el tiempo que estuvo expuesto. Una comprobación indirecta de esto, que se recoge en los protocolos de validación, consiste en realizar estudios comparativos entre los procedimientos de captación activo y pasivo, ya sea en el laboratorio, mediante la generación de atmósferas de concentración conocida, o en estudios experimentales de campo. La mayor parte de estos trabajos se ha realizado sobre muestreadores cuyo diseño se basa en el empleo de una lámina de carbón activo como superficie adsorbente con áreas de difusión relativamente grandes, demostrando que estos muestreadores pasivos son igual de eficaces que los dinámicos para la toma de muestras de compuestos como benceno, tolueno, xileno, etc. (62-68).

Se han desarrollado muchos tipos de muestreadores pasivos; algunos de estos diseños se ilustran en la figura 1.8. En unos casos, se han diseñado para recoger un amplio tipo de compuestos que puedan ser analizados adecuadamente en el laboratorio. En otros, por la naturaleza del adsorbente elegido, sirven preferentemente para un único agente o familia de agentes. Para la captación de vapores orgánicos está muy extendido, al igual que sucedía con los tubos adsorbentes, el uso de muestreadores difusivos cuyo lecho adsorbente está constituido por carbón activo, en este caso en forma de lámina, pudiendo tener incluso dos lechos para aquellas situaciones en las que se espera que el primero pueda saturarse.



Figura 1.8 Distintos diseños para muestreo pasivo.

Los muestreadores pasivos son fáciles de utilizar, no requieren de entrenamiento excesivo para su colocación y, sobre todo, no necesitan del empleo de bombas de aspiración evitando así los inconvenientes asociados con ello. Además, el hecho de no utilizar bombas, ni flujómetros para el control de los caudales hace al muestreo pasivo más económico que el activo. Por otro lado, tienen una mayor autonomía por lo que son especialmente idóneos para su utilización en periodos de toma de muestra prolongados, sin necesidad de prestarles atención durante los mismos. Esta particularidad los hace muy adecuados para tomar muestras en zonas de acceso restringido. El único parámetro que se debe determinar con precisión es el tiempo de muestreo.

Debido al desarrollo relativamente reciente de estos muestreadores no son muchos los métodos descritos por organismos de referencia basados en este tipo de muestreo, lo que hace necesaria una validación previa de acuerdo con alguno de los protocolos existentes. Esto suele ser costoso y requiere mucho tiempo. Por otra parte, cuando la concentración del contaminante en el ambiente es muy baja, la masa recogida por el muestreador puede ser pequeña, lo que hace que se requieran técnicas analíticas muy sensibles.

Una vez que se ha recogido la muestra en el lecho adsorbente, debe transportarse al laboratorio y si es necesario se almacena hasta el posterior análisis. Los métodos analíticos se basan, para la mayoría de los compuestos orgánicos, en el empleo de técnicas cromatográficas, como se detallará más adelante en el apartado 1.4.3.

1.4.2 Control biológico

El control biológico de la exposición es la medida y valoración de los agentes químicos, o de sus metabolitos, o de cambios bioquímicos originados por ellos en fluidos biológicos, secreciones, excreciones, aire exhalado, o tejidos, para evaluar la exposición y el riesgo para la salud del trabajador mediante su comparación con valores de referencia adecuados (69). Esta valoración del riesgo, basada en criterios biológicos, nos permite determinar la dosis interna recibida con independencia de la vía de entrada del xenobiótico.

Existe una estrecha relación entre el control ambiental y el biológico, basada en la relación entre exposición externa (también llamada dosis externa) y la dosis interna. Las dos formas de control tienen como fin la prevención de efectos sobre la salud. En la figura 1.9 se presenta un esquema de la relación existente entre exposición, dosis interna y efectos adversos (70).

Como se puede apreciar en la figura 1.9 existen dos tipos de control biológico diferentes y que a menudo se confunden: el control biológico de la exposición y el control biológico de efectos o vigilancia de la salud. Ambas técnicas preventivas se distinguen claramente por sus objetivos. Con la primera se pretende efectuar una prevención primaria por la que el individuo no llegue a presentar nunca alteraciones de salud. Mediante la segunda se pretende descubrir la presencia de alteraciones precoces de la salud del trabajador, lo que de hecho indica que se ha producido ya un daño en su organismo, evitando con ello que se produzca su progresivo deterioro (70).

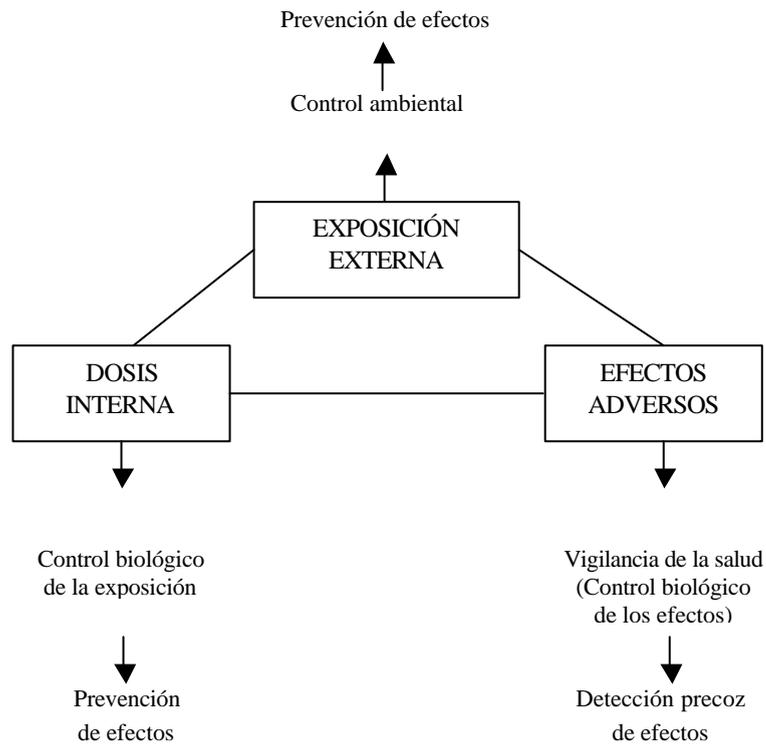


Figura 1.9 Esquema de la relación entre la exposición externa, dosis interna y efectos adversos y los correspondientes tipos de control.

El control biológico puede ser especialmente útil en las siguientes situaciones:

- a) Exposición a compuestos escasamente volátiles y que, por tanto, difícilmente van a encontrarse en concentraciones elevadas en el aire y será poco probable que sean absorbidos por vía inhalatoria, pero que pueden ser absorbidos a través de la piel.
- b) Manipulación de disolventes muy volátiles y, por tanto, fácilmente absorbibles por vía inhalatoria y que además pueden penetrar a través de la piel de quien los manipula.
- c) Evaluación de la exposición a un agente químico debida a prácticas o hábitos de trabajo inadecuados, aún cuando los niveles ambientales del mismo sean aceptables.

- d) Situaciones en las que los controles de aire ambiental sean difícilmente realizables en razón del propio puesto de trabajo, como es el caso de ciclos muy irregulares, o con desplazamientos constantes del trabajador de una zona a otra, o simplemente variaciones muy notables de la concentración ambiental en espacios de tiempo muy cortos.
- e) Cuando se requiera comprobar la eficacia de un sistema de protección personal frente a la presencia de un agente en el aire del lugar de trabajo.
- f) Situaciones en las que las mediciones ambientales no pueden reflejar la exposición interna del trabajador por alguna circunstancia especial, por ejemplo, un esfuerzo físico superior a lo normal.

Para emplear un método de control biológico es preciso conocer previamente las características del compuesto químico, bajo el punto de vista toxicocinético y toxicodinámico, sus vías principales de entrada, sus mecanismos de biotransformación, sus mecanismos y vías de eliminación, la especificidad y abundancia de sus metabolitos en los distintos fluidos biológicos, etc. (17,70).

A efectos prácticos, para realizar un programa de control biológico es necesario saber el indicador biológico que se va a utilizar, el espécimen biológico en el que se va a determinar, cómo y cuando se va a recoger la muestra, cómo se va a cuantificar y respecto a qué valor de referencia se va a comparar. Todos estos aspectos están relacionados entre sí puesto que unos condicionan a otros; por ejemplo, la utilización de un determinado valor límite puede condicionar el tipo de muestra, el espécimen y la estrategia de muestreo, por lo que es necesario ajustar todo el proceso a fin de obtener resultados comparables.

Indicador biológico

Un indicador biológico, también denominado biomarcador, determinante o marcador biológico de exposición, es el contaminante, metabolito o componente bioquímico a determinar y que de alguna manera es indicativo, directa o indirectamente, de la exposición que tiene lugar. Al realizar una determinación de cualquiera de las especies mencionadas, lo que se pretende es obtener una medida de la dosis interna del contaminante, que intuitivamente quiere expresar la cantidad de contaminante presente en el organismo. Sin embargo, el significado de la expresión dosis interna no es

siempre el mismo sino que depende del parámetro concreto al que hagamos referencia y del momento en que se realiza la toma de muestra.

El término "dosis interna" puede significar la cantidad de xenobiótico recientemente absorbida poco antes de la toma de muestra (lo que habitualmente sucede con los disolventes en aire alveolar o en sangre durante la jornada de trabajo), o la recibida durante el día anterior a la toma de muestra (cuando se determina la concentración de un disolvente en aire alveolar o en sangre 16 horas después de finalizar la exposición), o durante los últimos meses, cuando se trata de una sustancia con una vida media suficientemente prolongada en el compartimento que se investiga (como sucede con ciertos metales en sangre).

En otras circunstancias, "dosis interna" puede significar la cantidad total de sustancia almacenada en uno o varios compartimentos o en todo el organismo (como sucede en el caso de la determinación de disolventes halogenados en aire exhalado al iniciar el último día de la semana de exposición). También es el caso de los tóxicos muy acumulativos, como ciertos plaguicidas organoclorados, en los que la determinación de su concentración en sangre refleja la cantidad acumulada en el tejido adiposo.

El indicador biológico puede ser el propio compuesto, sus metabolitos característicos, productos procedentes de reacciones de conjugación del compuesto o de sus metabolitos que se puedan producir en los ciclos bioquímicos endógenos, aductos formados por reacción del compuesto o sus metabolitos con macromoléculas, interferencias bioquímicas o enzimáticas medibles, etc. (71).

Atendiendo al tipo de información que suministren se puede distinguir distintos tipos de indicadores. Los indicadores de dosis son aquellos que suministran información sobre la dosis interna de un compuesto ya sean de dosis real, es decir, aquellos que indican la cantidad de xenobiótico presente en el organismo, o de dosis efectiva, entendiendo por tales los que reflejan la interacción entre el tóxico y el órgano crítico. Los indicadores de efecto se relacionan con el control biológico de efectos o vigilancia de la salud y pueden ser de efecto bioquímico, cuando reflejan una alteración de parámetros bioquímicos (como la actividad enzimática), de efecto fisiológico que están basados en las variaciones fisiológicas inducidas por un tóxico (generalmente del sistema nervioso o respiratorio), o de efecto biológico precoz que son aquellos que reflejan las manifestaciones iniciales de los efectos adversos característicos. Finalmente, los indicadores de acumulación, ya sea diaria o

semanal, reflejan la cantidad de compuesto acumulado en los compartimentos biológicos en que se encuentran almacenados (tejido graso).

El determinante biológico que tiene la mejor correlación con la intensidad de la exposición es el preferido para la evaluación de la exposición. Por el contrario, el determinante cuyos niveles se correlacionan mejor con la concentración en el órgano diana es el preferido para evaluar el riesgo para la salud de un individuo.

Las exigencias que debe cumplir un marcador biológico para poder ser realmente útil en su finalidad preventiva son la existencia de una relación lineal entre el parámetro biológico (el valor del indicador o biomarcador) y la magnitud de la exposición en un amplio margen de ésta, la especificidad respecto al agente químico y la reproducibilidad en su medida.

Espécimen biológico

Es el medio biológico en el que se puede determinar la presencia de los marcadores biológicos de exposición laboral y está muy relacionado con las vías de entrada, distribución y eliminación de cada compuesto, así como con su naturaleza química. Especímenes tales como leche, pelos, tejido adiposo, saliva, heces, espermatozoides, etc., que se emplean en otras ramas de la toxicología, encuentran muy poca aplicación en el campo de la toxicología laboral, realizándose la mayoría de las determinaciones biológicas en sangre, orina o aire exhalado.

La sangre es el fluido biológico encargado de la distribución de los distintos nutrientes a los diversos tejidos y órganos del cuerpo, y de la recogida de los distintos productos de desecho de estos mismos tejidos, para su posterior eliminación a través del sistema excretor. Este espécimen constituye el principal vehículo de transporte y distribución de los compuestos químicos en el cuerpo, por tanto la mayoría de las sustancias sistemáticamente activas o sus metabolitos se pueden encontrar en este medio. Así pues, la sangre se puede utilizar para la determinación de la mayoría de compuestos inorgánicos y para los compuestos orgánicos que tengan tasas bajas de biotransformación y una vida media suficientemente larga (72).

Se debe distinguir entre sangre arterial, venosa y capilar. La sangre arterial es la procedente de los pulmones y tiene una mayor concentración de oxígeno, los contaminantes que se absorben por la vía pulmonar, mientras dura la

exposición, presentan una concentración mayor en la sangre arterial que en la venosa porque a su paso por los pulmones la sangre se carga de contaminante. Conforme el contaminante se distribuye por los distintos compartimentos, según la naturaleza del xenobiótico y su afinidad por los distintos tejidos, se produce un descenso de concentración del mismo a consecuencia de las reacciones metabólicas, del proceso de excreción y del posible paso a tejidos de acumulación. Una vez que la exposición cesa ocurre lo contrario, el metabolismo y la excreción provocan un descenso en la concentración en sangre arterial mientras que la sangre venosa se enriquece recogiendo el compuesto de los tejidos u órganos a los que anteriormente había sido aportado. En consecuencia la concentración en la sangre venosa tiende a equilibrarse con la de los tejidos u órganos por los que circula.

En contadas ocasiones se recurre a la toma de muestras de sangre capilar. La mayoría de las determinaciones se realizan sobre sangre venosa para lo cual la muestra se obtiene por punción venosa en el antebrazo o en otro punto si aquél no resulta accesible. Normalmente se suele extraer un volumen de 10 ml, que se recoge en un tubo adecuado. El grado de limpieza del material utilizado es fundamental puesto que, normalmente, en estas determinaciones los contaminantes se encuentran a nivel de trazas.

La principal ventaja del uso de este espécimen biológico es que está poco sometido a la variabilidad individual. Las desventajas estriban en que su recogida constituye una técnica invasiva que sólo puede realizar personal sanitario cualificado, las muestras se pueden deteriorar en su transporte y/o almacenamiento y, por último, los niveles de determinante serán muy bajos requiriendo por tanto procedimientos analíticos sofisticados.

La orina está compuesta en un 90-98% por agua y su composición está influida por la entrada y salida de líquidos del organismo. En general, cuanto mayor es la ingesta de líquidos mayor tiende a ser la cantidad de agua eliminada por la orina y, por el contrario, las pérdidas de agua del organismo, a través de la sudoración, tienden a disminuir la excreción de orina. En la orina se encuentra una gran cantidad de compuestos orgánicos e inorgánicos sólidos disueltos. La eliminación diaria de orina o diuresis oscila entre los 500 y los 2500 ml y suele situarse, por término medio, alrededor de los 1200 ml. En muchos casos, las variaciones en la eliminación de agua por la orina determinan las variaciones en la concentración de solutos en la misma y, por tanto, la del

indicador biológico que se pretende cuantificar. La mejor forma de solucionar este efecto de diuresis sobre la concentración del determinante sería recoger muestras de periodos suficientemente largos (24 horas) pero esto dificultaría en gran medida el muestreo. Por ello, hay que efectuar un ajuste del valor de concentración hallado. Existen básicamente dos sistemas de corrección de los resultados de la concentración del determinante en orina, en uno de ellos se utiliza la concentración de creatinina y en otro la densidad de la orina.

La creatinina es un componente normal de la orina que se origina como consecuencia de la actividad muscular. Su excreción diaria es muy constante para un mismo sujeto, aunque aumenta ligeramente con el ejercicio físico. Este ajuste consiste en expresar la cantidad de sustancia por gramo de creatinina, con lo cual el resultado, teóricamente, se ve poco afectado por el estado hídrico del individuo y los restantes factores que provocan variaciones en el volumen urinario. Este tipo de corrección se aplica a aquellas sustancias que se eliminan por el riñón mediante un mecanismo de filtración glomerular, por el contrario no se aplica a los compuestos que se eliminan a través de un mecanismo de difusión tubular.

La densidad de la orina oscila entre 1,003 y 1,030 g/ml. La corrección con densidad consiste en medir la densidad de la muestra tomada y recalcular la concentración del determinante para un valor de densidad estándar, que habitualmente es 1,020 g/ml (73,74).

Cuando las muestras presentan valores de densidad o creatinina fuera del rango de la normalidad deben rechazarse(74). La referencia de la concentración del determinante al contenido de creatinina, o a la densidad, permite normalizar los resultados obtenidos en muestras de orina puntuales (75,76).

Las muestras de orina son fáciles de recoger, se puede utilizar grandes volúmenes de muestra y su recogida constituye una técnica no invasiva. En la orina se determinan compuestos inorgánicos, entre los que se pueden citar principalmente los metales y compuestos orgánicos o sus metabolitos solubles en agua (74). Las posibilidades que ofrecen las nuevas técnicas analíticas han permitido determinar en este medio los compuestos orgánicos sin metabolizar para su utilización como indicadores biológicos de exposición (77,78), además, estudios recientes parecen indicar que la determinación de una sustancia sin

biotransformar presenta mayor especificidad que la determinación de sus metabolitos en orina (79).

El aire exhalado es una mezcla gaseosa cuya composición difiere de la del aire que ha entrado en los pulmones. Es una mezcla del aire alveolar, con el resto de aire que permanece ocupando las vías respiratorias cuando concluye una inspiración. A través de los pulmones tiene lugar la eliminación de una parte importante de algunos contaminantes gaseosos o volátiles. Una vez ha cesado la exposición, la concentración del contaminante en el aire exhalado y en el aire alveolar va descendiendo progresivamente. La sangre, a su paso por los distintos órganos, equilibra su concentración de contaminantes con la de los tejidos. De igual modo, al llegar a los pulmones la concentración del contaminante en sangre se equilibra con la del aire alveolar mediante difusión. En definitiva, la vía pulmonar tiene una gran importancia en la excreción de este tipo de compuestos, y concretamente el aire espirado es susceptible de ser utilizado como medio biológico en el que realizar medidas de los contaminantes. En muchos casos, la concentración de disolventes volátiles en aire alveolar tiene la misma significación que en sangre, con la ventaja de que la recogida de aire exhalado es una técnica no invasiva y, por tanto, mejor aceptada por los individuos expuestos.

El aspecto más importante a tener en cuenta para el empleo de este espécimen es la toma de muestra. Se debe distinguir entre "aire exhalado mezclado", que se obtiene durante una respiración normal, siendo por tanto una mezcla de aire alveolar y aire procedente del volumen muerto del sistema respiratorio, o bien "aire exhalado final", que se obtiene al final de una exhalación y refleja mayoritariamente la fracción alveolar. La concentración de contaminante en aire exhalado final es la que suministra una información más representativa del nivel del compuesto en sangre.

La recogida de muestras de todo el aire espirado se puede llevar a cabo mediante el empleo de recipientes de capacidad suficiente. Puede ser recogido, por ejemplo espirando en bolsas especiales. Cuando se quiere obtener la fracción final del aire exhalado es preciso utilizar dispositivos de muestreo que la seleccionen y eliminen el volumen muerto lo cual supone, como mínimo, descartar los primeros 600 ml de aire espirado (80). No obstante, cuanto mayor sea el volumen inicial desechado más se asemejará la muestra al aire alveolar. Es necesario que la toma de muestra se lleve a cabo de una forma muy cuidadosa para que los resultados sean reproducibles.

El momento del muestreo, en relación con el periodo de la exposición, es crítico para todos los especímenes pero lo es especialmente para el aire exhalado. En función del momento en que se recoja la muestra podremos obtener información relacionada con la exposición reciente o con la acumulación diaria o semanal.

Las determinaciones en aire exhalado están limitadas a compuestos orgánicos volátiles y constituyen un método no invasivo y bien aceptado por la población por la sencillez de la toma de muestra (81-83). Una ventaja de su utilización estriba en la gran limpieza de la muestra obtenida, que está exenta de efectos de matriz que habitualmente presentan la sangre o la orina. El marcador biológico suele ser casi siempre el propio compuesto sin biotransformar, por lo que las determinaciones en este medio son muy específicas, ya que es prácticamente imposible la presencia de interferencias de carácter endógeno.

Ventajas y limitaciones del control biológico

El control biológico de la exposición laboral a compuestos químicos proporciona una evaluación del riesgo para la salud más ajustada que el control ambiental ya que un parámetro biológico, que refleje la dosis interna, está necesariamente más relacionado con los efectos biológicos tóxicos que una medición de la concentración ambiental. Además, presenta la ventaja de integrar todas las vías de entrada de los contaminantes: respiratoria, digestiva y percutánea, permitiendo en ciertos casos estimar la posible contribución de cada una de ellas a la dosis interna (84).

El control biológico también permite valorar el riesgo global generado por la exposición a un agente, porque reflejará otras posibles exposiciones distintas a las de origen laboral debidas al lugar de residencia, actividades de ocio, hábitos alimenticios, etc., que pueden constituir una exposición de fondo que incremente o potencie la estrictamente laboral. Así mismo, pone de manifiesto aspectos concretos de la exposición, como variaciones individuales en la velocidad de absorción de un compuesto químico, el efecto de la carga de trabajo del individuo expuesto, o el tamaño y solubilidad de las partículas del agente contaminante. Finalmente, la principal ventaja del control biológico es que posibilita el control individual de la exposición a la que se encuentra sometido el trabajador.

Por el contrario, los resultados del control biológico estarán sometidos a las diferencias intraindividuales e interindividuales que tienen lugar en las concentraciones de los determinantes elegidos, aún en las mismas condiciones de exposición. La respuesta del ser humano a un mismo nivel de exposición a un

agente químico varía ampliamente. Esta variabilidad puede estar asociada con las diferencias en la penetración del agente químico desde el ambiente hacia el órgano diana en la que tienen que ver enzimas y sistemas bioquímicos, o con las diferencias entre distintos individuos en la respuesta del órgano diana.

Para poder comparar los datos procedentes del control biológico con los resultados del control ambiental es importante conocer el grado de significación de las distintas fuentes de variación implicadas. Las diferencias se pueden atribuir a los factores siguientes (85):

a) Fuentes de variación en el ambiente de trabajo.

Las condiciones de trabajo en la industria pueden cambiar de un día a otro e incluso durante una misma jornada y como consecuencia se pueden dar fluctuaciones en la concentración de exposición. La cantidad inhalada y la absorbida no se pueden considerar constantes. La fluctuación en la concentración ambiental genera una fluctuación en la concentración en los órganos diana. El efecto de la fluctuación en la intensidad de la exposición sobre los niveles biológicos depende del comportamiento cinético del agente en el organismo. La concentración en el órgano diana de un agente de corta vida media biológica sigue estrechamente la concentración ambiental y, por tanto, tiene una mayor variabilidad. En contraposición los niveles de un compuesto con larga vida media biológica en el órgano diana fluctuarán muy poco. Las concentraciones en los determinantes biológicos cambian de forma semejante. Así pues, los determinantes con baja vida media biológica indican la exposición en periodos muy próximos al instante en que se recoge la muestra. Por el contrario, los determinantes de larga vida media biológica aportan información sobre la exposición de un largo periodo de tiempo.

Aunque es frecuente asumir que la entrada al organismo de los tóxicos se produce por vía inhalatoria, hay situaciones en la industria en las que otras rutas de entrada pueden adquirir importancia. Los compuestos líquidos o que se encuentren en disolución pueden ingresar en el organismo por vía dérmica y, dado que el control ambiental solo monitoriza la entrada por vía inhalatoria, se modifica la relación entre concentración ambiental y el determinante biológico. Además la absorción dérmica puede alterar la relación entre la concentración ambiental y la concentración en el órgano diana mediante la modificación de los procesos farmacocinéticos.

La forma del contaminante o su tamaño también es una fuente de variación. Cuando se forman aerosoles, la magnitud en que se produce la

entrada y la velocidad de entrada dependen de la distribución por tamaños de partícula y de la solubilidad del aerosol. De esta forma la relación entre muestreo ambiental, concentración en el órgano diana y concentración del determinante biológico dependen de las propiedades del aerosol.

Por último, cada trabajo lleva asociada una carga física específica que varía con la tarea que se realiza y con la industria. La carga de trabajo durante la exposición produce un incremento de la velocidad de entrada debido al aumento de la ventilación pulmonar y el rendimiento cardiaco lo que modifica la distribución del agente en los tejidos. El ejercicio después del trabajo acelera la eliminación de los agentes volátiles y, en menor extensión, de sus metabolitos. Como se puede apreciar la carga de trabajo tiene una influencia compleja sobre la farmacocinética de un compuesto. Generalmente incrementa la ventilación pulmonar pero no necesariamente afecta a los niveles de los determinantes biológicos en la misma extensión.

b) Fuentes de variación en el organismo humano, interindividuales o intraindividuales.

La absorción respiratoria se modifica principalmente por la solubilidad del compuesto en sangre, la cual varía entre distintos individuos y en un mismo individuo puede variar según varíe su dieta. Esto trae como consecuencia variaciones en las medidas de determinantes en sangre o en aire exhalado.

La distribución de los tóxicos en el organismo depende de la constitución de cada individuo. Por ejemplo, los compuestos liposolubles se distribuyen de forma diferente en personas delgadas que en personas obesas. El grado de enlace entre el agente y las macromoléculas determina la concentración del tóxico libre disponible para su distribución y eliminación. Este grado de enlace varía debido a la diferencia en la concentración de proteínas entre individuos y puede alterarse en la presencia de otros agentes, fármacos o drogas. Además, la concentración del agente libre y el volumen de distribución puede ser dependiente de la intensidad de la exposición.

Las diferencias en el metabolismo constituyen probablemente la principal causa de variabilidad farmacocinética entre individuos. El metabolismo tiene lugar principalmente en el hígado y en algunos órganos (pulmón, piel) en menor extensión. El metabolismo se ve afectado por muy distintos factores. Es conocido que los factores genéticos juegan un papel importante en la metabolización de algunos fármacos y drogas. Los factores ambientales alteran la capacidad de un individuo para metabolizar un compuesto. Las enzimas metabólicas pueden ser

inducidas por el consumo de tabaco, la medicación o la absorción de otros agentes presentes en el ambiente o en la dieta. Por otra parte, la absorción simultánea de agentes en grandes dosis relativas, como el consumo de alcohol, drogas o la exposición a otros agentes presentes en el ambiente pueden frenar la velocidad de metabolización por inhibición (usualmente competitiva) del sistema enzimático.

La velocidad de metabolización no sólo depende de la disponibilidad y la actividad de los sistemas enzimáticos. También depende de la disponibilidad del agente y ésta a su vez de la velocidad con que es llevado al lugar en que se metaboliza. En algunos casos, el flujo sanguíneo y los enlaces con proteínas pueden inducir una variabilidad significativa de los niveles de metabolito entre individuos.

Los agentes químicos suelen ser excretados a través de los pulmones (si son volátiles) y de los riñones (si son solubles en agua). La excreción pulmonar se gobierna por los mismos principios que la absorción pulmonar. La excreción renal es el resultado de tres mecanismos: filtración glomerular, secreción tubular y reabsorción tubular. Las fuentes de variabilidad en los determinantes excretados en orina están directamente relacionadas con el mecanismo de excreción utilizado por el organismo, por ejemplo aquellos compuestos eliminados por filtración glomerular se ven afectados por la velocidad de filtración en el riñón. Este efecto de diuresis, como ya se dijo, se puede reducir en parte refiriendo los niveles de compuesto hallado a la concentración de creatinina o a la densidad de la orina.

Debido a los factores anteriormente descritos, una misma situación de exposición en diferentes individuos no conduce a los mismos niveles del agente o sus metabolitos en tejidos, en el órgano diana o en los distintos fluidos biológicos.

La importancia de estos efectos debe valorarse individualmente en cada situación. Los fármacos, los contaminantes ambientales o la exposición a otros compuestos químicos puede alterar la relación entre la intensidad de la exposición laboral y el nivel del determinante en el espécimen, bien sea por adición de éste al ya existente o por alteración del metabolismo o eliminación del compuesto químico en estudio.

Además de la variabilidad inter e intraindividual, otros inconvenientes del control biológico son la inespecificidad de los biomarcadores, la posible

dificultad en la obtención de la muestra y el limitado número de valores de referencia, en comparación con los valores de referencia ambientales.

Indicadores biológicos de estireno

Debido a la abundancia en que se encuentran en la orina de las personas expuestas y la facilidad en la obtención de este tipo de muestras, los indicadores biológicos tradicionalmente empleados para evaluar la exposición a estireno son sus metabolitos, ácido mándelico (MA) y ácido fenilglioxílico (PGA) en orina (figura 1.3) siendo numerosos los trabajos en los que se estudian estos biomarcadores (21,35,86,87). La formación de ambos metabolitos de estireno presenta variabilidad interindividual (88). De entre las fuentes de variación mencionadas en el anterior apartado se atribuye dicha variabilidad al consumo de alcohol (28), y a diferencias en la entrada, metabolismo y excreción entre los distintos individuos (88).

En algunos estudios se pone de manifiesto una correlación significativa entre el valor de la concentración ambiental de estireno y la concentración urinaria de MA, tanto al final del turno como al inicio de la jornada siguiente (89), mientras que otros estudios presentan la mejor correlación entre la concentración ambiental y la suma de concentraciones de MA y PGA al final del periodo de trabajo (90). Los inconvenientes asociados con el empleo de estos indicadores han hecho que se busquen otros alternativos.

Los trabajos más recientes apuntan a que la determinación de los ácidos mercaptúricos en la orina, metabolitos minoritarios (ver figura 1.3) que como se comentó en el apartado 1.2 representan en torno al 1% de la dosis absorbida, puede considerarse un buen método de control biológico de la exposición a estireno (19,91).

Un pequeño porcentaje del estireno absorbido se elimina, parcialmente, por vía respiratoria sin haber sufrido biotransformación (22,23). Puede resultar, por tanto, interesante la medida del compuesto como tal en aire exhalado para llevar a cabo un control biológico de exposición que complemente la valoración ambiental.

La posibilidad de utilizar aire exhalado para el control biológico de exposición se ha estudiado en distintos trabajos experimentales, en los que se ha establecido su relación con otros parámetros biológicos o ambientales tanto

en poblaciones laborales como en voluntarios (89,92,93). La determinación en aire exhalado constituye un método no invasivo y bien aceptado por la población por la sencillez de la toma de muestra. Como ya se expuso en el apartado 1.4, la principal dificultad del uso de este espécimen estriba en encontrar un buen sistema para la toma de muestras de "aire exhalado final" representativo del aire alveolar. Un trabajo reciente de revisión de estos sistemas predice un gran futuro para el uso de este espécimen y por lo tanto para el empleo del indicador estireno en aire exhalado (94).

Otro posible indicador biológico es el estireno sin metabolizar que se excreta en la orina (24). Los trabajos (21,24,78) llevados a cabo utilizando este indicador revelan su utilidad. El principal inconveniente asociado a la determinación de estireno en fluidos biológicos radica en el análisis de muestras de tan baja concentración. En este sentido una buena técnica para la toma de muestras y el análisis podría basarse en la recuperación del estireno de los fluidos biológicos utilizando para ello adsorbentes que puedan ser desorbidos térmicamente y que permitan, por tanto, su concentración y total desorción (95).

El análisis del estireno en la sangre también se ha propuesto como un indicador de la exposición a estireno (89,96). Se ha llegado a comprobar que la concentración de estireno en la sangre se incrementa con el nivel y la duración de la exposición. El estireno en sangre como indicador biológico podría elegirse al igual que los dos anteriores; sin embargo, presenta dos importantes inconvenientes, el primero es que se trata de una técnica invasiva que crea alarma en las personas a las que se toman las muestras, el otro es que a diferencia de la orina y el aire exhalado la toma de muestras requiere de la intervención de personal sanitario haciendo más difícil y costoso el muestreo.

Un indicador de acumulación, muy poco utilizado, posiblemente debido a las dificultades que entraña la toma de muestras y su determinación es la presencia de estireno en tejido adiposo (97).

1.4.3 Metodologías analíticas para el control ambiental y biológico

Metodologías para control ambiental

En el control ambiental de la exposición a compuestos volátiles orgánicos, una vez tomada la muestra y con el contaminante de interés retenido en el adsorbente, el primer paso para poder analizarlo es la desorción. Normalmente

se realiza la desorción química con un disolvente, el contaminante pasa de esta manera a una disolución y ésta se analiza habitualmente por cromatografía de gases. Cuando el adsorbente es carbón activo es frecuente emplear disulfuro de carbono como agente desorbente.

La desorción con disolvente implica el paso del analito recogido a una disolución. Esto, que en la mayor parte de los casos resulta suficientemente útil, constituye un inconveniente cuando la masa a analizar es pequeña. Algunos muestreadores pasivos de diseño más reciente captan muy bajas cantidades de compuesto. El desarrollo de estos muestreadores viene emparejado con el de una técnica alternativa, la desorción térmica, que se basa en la introducción del muestreador en un horno a temperatura adecuada y la utilización de una corriente de gas inerte que pasa a través del relleno adsorbente. El paso del gas de purga y la temperatura facilitan la desorción total del compuesto recogido hacia una trampa fría. En una segunda etapa esta trampa fría, que está unida mediante una línea de transferencia al inyector de un cromatógrafo de gases, se calienta rápidamente produciéndose un efecto semejante a una inyección cromatográfica. Esta técnica permite, por tanto, el análisis de toda la masa recogida.

Uno de los campos de estudio en los métodos analíticos para control ambiental radica en la selección de adsorbentes para la toma de muestra que, posteriormente, permitan la desorción total del compuesto. Se puede destacar un estudio que demuestra la utilidad de dos adsorbentes tales como el Tenax GR y Carbosieve SIII para la desorción térmica y análisis de 77 compuestos volátiles diferentes (98). También se ha comprobado la viabilidad del uso de Carbo-pack B (99). En revisiones recientes se pueden encontrar otros ejemplos de trabajos en los que se ha estudiado la utilidad de nuevos soportes adsorbentes (100).

Otro ámbito importante de desarrollo de las técnicas analíticas para control ambiental se centra en las medidas "in situ". Estos sistemas, aunque son menos sensibles que los instrumentos de laboratorio, son necesarios en determinadas situaciones que se plantean en el ambiente de trabajo. El importante desarrollo tecnológico de las últimas décadas ha hecho posible desplazar al lugar donde se han de tomar las muestras equipos para análisis que, tradicionalmente, se encontraban en el laboratorio, mejorándose notablemente la sensibilidad asociada a los primeros prototipos desarrollados. Estos equipos no sólo permiten realizar medidas puntuales, sino que con ellos se puede incluso tomar muestras

en continuo durante todo el proceso (101,102). El crecimiento en la demanda de equipos portátiles para análisis se debe a que encuentra aplicación, además de en higiene industrial, en campos tan diversos como la química medioambiental, la investigación policial y la seguridad militar (103).

Por último, para el análisis de compuestos orgánicos volátiles, la técnica analítica por excelencia es la cromatografía de gases. El desarrollo de los detectores basados en la espectrometría de masas ha permitido identificar al compuesto, además de por su tiempo de retención, por su espectro de masas. Por otra parte, el desarrollo de columnas capilares cada vez más específicas y adecuadas a compuestos o familias de compuestos, la aparición de los inyectores automáticos y las mejoras en la capacidad de cálculo y procesamiento de los equipos informáticos, han permitido automatizar los procedimientos de análisis.

Metodologías para control biológico

Las muestras para el control biológico deben proporcionar una cantidad suficiente del determinante a analizar, que éste sea lo más específico posible y que los niveles esperables sean detectables por las técnicas analíticas que se vayan a utilizar.

El incremento en la aplicación y desarrollo de procedimientos de control biológico ha tenido como consecuencia la puesta a punto de numerosos procedimientos analíticos descritos en trabajos experimentales y de aplicación. El interés de esta materia se refleja en las revisiones que bianualmente se publican en *Analytical Chemistry* sobre higiene industrial, así en el bienio 1994-95, se seleccionaron y comentaron 163 artículos (104), en el bienio 1996-97 fueron 321 (105) y en el bienio 1998-99 un total de 129 (106). Además, en el año 2001 se publicó una revisión que se centró exclusivamente en los avances en control biológico (107). Tanto el número de trabajos como la variedad de técnicas analíticas utilizadas da idea de la importancia creciente de este tema.

Las técnicas de análisis instrumental que se asocian al control biológico de exposición a compuestos orgánicos volátiles, son las de cromatografía líquida y cromatografía de gases-espectrometría de masas. La innovación instrumental más importante en los últimos años relacionada con la cromatografía tiene que ver con el desarrollo y aplicación de diversas técnicas auxiliares de

concentración y preparación de muestras, tales como las de espacio de cabeza (108,109), purga y trampa (110) y desorción térmica (111,112).

La técnica de espacio de cabeza, "head space", permite la determinación indirecta de la concentración de los compuestos volátiles presentes en muestras sólidas o líquidas. Para ello, se analiza la fase vapor que se encuentra en equilibrio termodinámico con la muestra en un sistema cerrado. Su principal campo de aplicación es la determinación de compuestos volátiles, cuando estos se encuentran en concentraciones muy bajas. La técnica disminuye los inconvenientes de las técnicas tradicionales de extracción y enriquecimiento de muestra, como son la extracción con disolventes o la destilación a vacío, en las que se puede producir la extracción adicional de componentes de la matriz. El análisis mediante espacio de cabeza está limitado a la extracción de los compuestos volátiles, los cuales pueden resolverse con facilidad por cromatografía de gases (113).

La técnica de purga y trampa, "purge and trap", es una variante de la técnica de espacio de cabeza anteriormente descrita aplicable a muestras líquidas. Consiste en la continua renovación del gas en equilibrio con la muestra, con lo que se consigue el desplazamiento dinámico de los compuestos volátiles presentes en la muestra líquida a la fase gaseosa. El flujo de gas inerte arrastra a los vapores de compuesto hacia una trampa, que generalmente es un adsorbente sólido, donde quedan retenidos y se van concentrando. Una vez finalizado el proceso se calienta la trampa desorbiéndose los vapores y un nuevo flujo de gas inerte los arrastra al interior del cromatógrafo de gases donde son analizados (113).

Tanto en la técnica de espacio de cabeza como en la de purga y trampa es necesario controlar de manera apropiada la pureza de los gases empleados y la temperatura de trabajo para evitar fuentes de contaminación y conseguir que las experiencias sean reproducibles.

Cualquiera de las técnicas anteriormente citadas permite separar, si se seleccionan las condiciones adecuadas, el agente químico a analizar de la matriz en la que se encontraba retenido. A continuación, la técnica analítica utilizada suele ser la cromatografía de gases.

Cuando se analizan los metabolitos, que generalmente no son volátiles, se suele utilizar la cromatografía líquida, empleando un detector "diode array", mediante el que se obtiene el espectro visible ultravioleta de los compuestos que van eluyendo de la columna. No es habitual todavía encontrar en los laboratorios equipos de cromatografía líquida que incorporen detectores

basados en la espectrometría de masas, su utilización supondrá una notable mejora en la identificación de los compuestos previamente separados.

1.5 Reglamentación sobre la exposición laboral a agentes químicos

En la Unión Europea se ha desarrollado una serie de directivas específicas para aquellos contaminantes que son muy nocivos para la salud, como es el caso del amianto o del plomo. En España se han ido adaptando dichas directivas comunitarias y el resultado ha sido el establecimiento de sendas Ordenes Ministeriales y Reales Decretos que se ocupan de velar por la salud de las personas que trabajan con esos agentes. Entre todas ellas se puede destacar la Orden Ministerial que se refiere a la exposición a cloruro de vinilo, que es un compuesto que guarda cierta semejanza química con el estireno (114). Estas órdenes superan el mero establecimiento de valores límite de referencia, apuntando cómo ha de hacerse el muestreo, qué hacer cuando se superan los límites de referencia establecidos, y presentando incluso planes de seguimiento médico del personal expuesto.

Desde el 5 de mayo de 2001 en que entró en vigor el REAL DECRETO 374/2001, de 6 de abril sobre la protección de la salud y seguridad de los trabajadores contra los riesgos relacionados con los agentes químicos durante el trabajo (115), se dispone en España de un nuevo marco legal con el que se ha realizado un importante avance en materia de protección de la salud de los trabajadores. El objeto del RD 374/2001 es establecer las disposiciones mínimas para la protección de los trabajadores contra los riesgos derivados o que puedan derivarse de la presencia de agentes químicos en el lugar de trabajo o de cualquier actividad con agentes químicos. En el RD se presentan las siguientes definiciones:

Agente químico: todo elemento o compuesto químico, por sí solo o mezclado, tal como se presenta en estado natural o es producido, utilizado o vertido, incluido el vertido como residuo, en una actividad laboral, se haya elaborado o no de modo intencional y se haya comercializado o no.

Exposición a un agente químico: presencia de un agente químico en el lugar de trabajo que implica el contacto de éste con el trabajador, normalmente por inhalación o por vía dérmica.

Peligro: la capacidad intrínseca de un agente químico para causar daño.

Riesgo: la posibilidad de que un trabajador sufra un determinado daño derivado de la exposición a agentes químicos. Para calificar un riesgo desde el punto de vista de su gravedad, se valorarán conjuntamente la probabilidad de que se produzca el daño y la severidad del mismo.

Agente químico peligroso: agente químico que puede representar un riesgo para la seguridad y salud de los trabajadores debido a sus propiedades fisicoquímicas, químicas o toxicológicas y a la forma en que se utiliza o se halla presente en el lugar de trabajo. Se consideran incluidos en esta definición, en particular:

Los agentes químicos que cumplan los criterios para su clasificación como sustancias o preparados peligrosos establecidos, respectivamente, en la normativa sobre notificación de sustancias nuevas y clasificación, envasado y etiquetado de sustancias peligrosas (116) y en la normativa sobre clasificación, envasado y etiquetado de preparados peligrosos (117), con independencia de que el agente esté clasificado o no en dichas normativas, con excepción de los agentes que únicamente cumplan los requisitos para su clasificación como peligrosos para el medio ambiente.

Los agentes químicos que dispongan de un valor límite ambiental establecido en el anexo I del Real Decreto (tan solo es el caso del Plomo) o en una normativa específica aplicable. También se consideran aquellos agentes, cuyos valores límite ambientales hayan sido publicados por el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo en el «Documento sobre límites de exposición profesional para agentes químicos en España».

Actividad con agentes químicos: todo trabajo en el que se utilicen agentes químicos, o esté previsto utilizarlos, en cualquier proceso, incluidos la producción, la manipulación, el almacenamiento, el transporte o la evacuación y el tratamiento, o en que se produzcan como resultado de dicho trabajo.

Productos intermedios: las sustancias formadas durante las reacciones químicas y que se transforman y desaparecen antes del final de la reacción o del proceso.

Subproductos: las sustancias que se forman durante las reacciones químicas y que permanecen al final de la reacción o del proceso.

Valores límite ambientales: valores límite de referencia para las concentraciones de los agentes químicos en la zona de respiración de un trabajador. Se distinguen dos tipos de valores límite ambientales:

Valor límite ambiental para la exposición diaria: valor límite de la concentración media, medida o calculada de forma ponderada con respecto al tiempo para la jornada laboral real y referida a una jornada estándar de ocho horas diarias.

Valor límite ambiental para exposiciones de corta duración: valor límite de la concentración media, medida o calculada para cualquier periodo de quince minutos a lo largo de la jornada laboral, excepto para aquellos agentes químicos para los que se especifique un periodo de referencia inferior.

Valor límite biológico: el límite de la concentración, en el medio biológico adecuado, del agente químico o de uno de sus metabolitos o de otro indicador biológico directa o indirectamente relacionado con los efectos de la exposición del trabajador al agente en cuestión.

Vigilancia de la salud: el examen de cada trabajador para determinar su estado de salud, en relación con la exposición a agentes químicos específicos en el trabajo.

El RD 374/2001 establece las obligaciones del empresario para la protección de la salud de los trabajadores, que consisten en la evaluación de los riesgos debidos a la existencia de agentes químicos peligrosos en el lugar de trabajo, la prevención de dichos riesgos mediante medidas específicas de prevención y protección e incluso la vigilancia de la salud de los trabajadores. También es obligación del empresario garantizar que los trabajadores reciban una formación e información adecuadas sobre los riesgos derivados de la presencia de agentes químicos peligrosos en el lugar de trabajo, así como sobre las medidas de prevención y protección que hayan de adoptarse.

El artículo 4 del RD 374/2001 establece que los riesgos para la salud y la seguridad de los trabajadores en trabajos en los que haya actividad con agentes químicos peligrosos se eliminarán o reducirán al mínimo mediante la concepción y organización de los sistemas de trabajo en el lugar de trabajo, la selección e instalación de los equipos de trabajo, el establecimiento de los procedimientos adecuados para el uso y mantenimiento de los equipos utilizados para trabajar con agentes químicos peligrosos, la adopción de medidas higiénicas adecuadas, tanto personales como de orden y limpieza,

la reducción de las cantidades de agentes químicos peligrosos presentes en el lugar de trabajo al mínimo necesario para el tipo de trabajo de que se trate, la reducción al mínimo del número de trabajadores expuestos y la reducción al mínimo de la duración e intensidad de las exposiciones.

Cuando la evaluación de los riesgos sea desfavorable, teniendo en cuenta los criterios establecidos en el Real Decreto, como son la superación del valor límite ambiental establecido o la existencia de riesgo para la salud y la seguridad de los trabajadores, se deberán tomar las medidas específicas de prevención y protección que se contemplan en el artículo 5. Dichas medidas se pueden resumir en:

1. Garantizar la eliminación o reducción al mínimo del riesgo evitando el uso del agente sustituyéndolo por otro o por un proceso químico que no sea peligroso o lo sea en menor grado.

Cuando la naturaleza de la actividad no permita la eliminación del riesgo por sustitución, se aplicarán las siguientes medidas, por orden de prioridad:

- a. La concepción y la utilización de procedimientos de trabajo, controles técnicos, equipos y materiales para evitar o reducir al mínimo cualquier escape o difusión al ambiente o cualquier contacto directo con el trabajador .
 - b. Medidas de ventilación u otras medidas de protección colectiva, aplicadas preferentemente en el origen del riesgo, y medidas adecuadas de organización del trabajo.
 - c. Medidas de protección individual, cuando la exposición o contacto con el agente no pueda evitarse por otros medios.
2. Adoptar, en particular, las medidas frente a los riesgos derivados de la presencia en el lugar de trabajo de agentes que puedan dar lugar a incendios, explosiones u otras reacciones químicas peligrosas.
 3. Prevención de las explosiones.

1.6 Valores de referencia

La medida de cualquier parámetro, ambiental o biológico, relacionado con la exposición no tiene gran valor de forma aislada. Es importante comparar el valor hallado para cada persona expuesta con valores de referencia

ambientales o biológicos. Tanto en el caso del control ambiental como en el del biológico, siempre se plantea la cuestión del establecimiento de unos límites de referencia. El establecimiento de un valor límite se basa en el supuesto de que para una sustancia existe un nivel seguro o aceptable, por debajo del cual no se producen efectos nocivos o irreversibles a consecuencia de la exposición continuada durante toda la vida laboral de un individuo. Los valores de referencia ambientales o biológicos pretenden establecer un umbral para que la mayoría de los individuos expuestos no sufran los efectos adversos del agente tóxico. La adopción de valores límite ambientales o biológicos, requiere de unos criterios que se sustentan en datos toxicológicos y epidemiológicos.

En cuanto a los valores límite, el RD 374/2001 remite a su anexo I, en el que sólo aparece valor límite para el plomo, y a los valores límite ambientales publicados por el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT) en el «Documento sobre límites de exposición profesional para agentes químicos en España». En 1999, el INSHT publicó la primera monografía sobre límites de exposición profesional para agentes químicos en España (118). La lista de valores se actualiza y mejora periódicamente; de hecho, recientemente se publicó la lista para los años 2001-2002 (119) y en ella aparecen por vez primera valores biológicos de referencia para una gran cantidad de compuestos que, aunque no han sido referidos en el RD 374/2001, con el paso del tiempo se deberán tener en cuenta del mismo modo que sucedió con la primera lista de valores ambientales publicada en 1999.

Se debe destacar que hasta la publicación de los valores límite por el INSHT en 1999, los valores de referencia más utilizados en España para la mayor parte de los contaminantes típicos de los ambientes de trabajo eran los TLVs (valores de referencia ambiental) y los BEIs (índices biológicos de exposición) de la American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) (120).

Otros valores muy aceptados son los MAK y BAT, ambientales y biológicos respectivamente, de la Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) (121).

En todos los países desarrollados existen asociaciones científicas semejantes a las mencionadas que publican y revisan con cierta periodicidad unas listas de valores ambientales y biológicos de referencia aceptados para una gran cantidad de compuestos típicos del lugar de trabajo.

1.6.1 Valores ambientales de referencia

La definición de valores límite ambientales (VLA) que se realiza en el «Documento sobre límites de exposición profesional para agentes químicos en España» es la siguiente:

Son valores de referencia para las concentraciones de los agentes químicos en el aire, y representan condiciones a las cuales se cree, basándose en los conocimientos actuales, que la mayoría de los trabajadores pueden estar expuestos 8 horas diarias y 40 semanales, durante toda su vida laboral, sin sufrir efectos adversos para su salud.

Estos valores se refieren a la mayoría de los trabajadores y no a la totalidad puesto que, debido a la amplitud de las diferencias de respuesta existentes entre los individuos, basadas tanto en factores genéticos como en hábitos de vida, un pequeño porcentaje de trabajadores podría experimentar molestias a concentraciones inferiores a los VLA, e incluso resultar afectados más seriamente, sea por agravamiento de una condición previa o desarrollando una patología laboral.

Los VLA se establecen teniendo en cuenta la información disponible procedente de la analogía físico-química de los agentes químicos, de los estudios de experimentación animal y humana, de los estudios epidemiológicos y de la experiencia industrial.

Los VLA sirven exclusivamente para la evaluación y el control de los riesgos por inhalación de los agentes químicos incluidos en la lista de valores. Cuando uno de estos agentes se puede absorber por vía cutánea, sea por la manipulación directa del mismo, sea a través del contacto de los vapores con las partes desprotegidas de la piel, y esta aportación pueda resultar significativa para la dosis absorbida por el trabajador, el agente en cuestión aparece señalado en la lista con la notación "vía dérmica". Esta llamada advierte, por una parte, de que la medición de la concentración ambiental puede no ser suficiente para cuantificar la exposición global y, por otra, de la necesidad de adoptar medidas para prevenir la absorción cutánea.

Existen dos categorías de VLA:

VLA-ED (Valor límite ambiental-Exposición diaria). Es el valor de referencia para la exposición diaria, que se define como la concentración media del

agente químico en la zona de respiración del trabajador medida, o calculada de forma ponderada con respecto al tiempo, para la jornada laboral real y referida a una jornada estándar de 8 horas.

El hecho de referir la concentración media a dicha jornada estándar implica considerar el conjunto de las distintas exposiciones del trabajador a lo largo de la jornada real de trabajo, cada una con su correspondiente duración, como equivalente a una única exposición uniforme de 8 horas.

VLA-EC (Valor Límite Ambiental-Exposición de Corta Duración). Es el valor de referencia para la exposición de corta duración, entendida ésta como la concentración media del agente químico en la zona de respiración del trabajador, medida o calculada para cualquier periodo de 15 minutos a lo largo de la jornada laboral, excepto para aquellos agentes químicos para los que se especifique un periodo de referencia inferior, en la lista de valores límite.

Los VLA para estireno que aparecen en esta lista son 86 mg/m³ como VLA-ED y 172 mg/m³ como VLA-EC (Tabla 1.2).

Como se ha indicado anteriormente existen límites de exposición ambiental propuestos por asociaciones internacionales de reconocido prestigio tales como la American Conference of Governmental Industrial Hygienist (ACGIH) y la Deutsche Forschungsgemeinschaft que publican periódicamente los valores de referencia ambiental TLV y MAK. Los principios por los que se rigen estos valores se resumen a continuación:

Los valores *TLV (Threshold Limit Values)* o Valores Límite Umbral representan los límites máximos de concentración permitidos de una sustancia en el aire en función del tiempo de exposición. Los trabajadores pueden exponerse repetidamente a la acción de tales concentraciones, sin sufrir ningún riesgo presumible para su salud .

Sin embargo, dada la elevada variación en la susceptibilidad individual, es posible que un pequeño porcentaje de trabajadores experimente malestar ante algunas concentraciones iguales o inferiores al límite umbral, mientras que un porcentaje menor puede resultar afectado más seriamente por la agravación de una condición que ya existía anteriormente, o por la aparición de una enfermedad profesional.

Entre sus recomendaciones de utilización, se contempla la posibilidad de que algunas personas puedan presentar una respuesta inesperada a algunos compuestos químicos de uso industrial, debido a factores genéticos, edad, hábitos personales (tabaco, alcohol y uso de otras drogas), medicación o exposiciones anteriores que les han sensibilizado. Estas personas puede que no estén protegidas adecuadamente ante los efectos adversos para su salud de ciertos compuestos químicos a concentraciones próximas o por debajo del TLV, por lo que se debe evaluar en estos casos la protección adicional que requieren estos trabajadores.

Así pues, con la información disponible en la actualidad no se puede hablar claramente de niveles de seguridad. Los higienistas pertenecientes a la American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH), han establecido valores TLV para la mayoría de sustancias químicas presentes en el medio ambiente de trabajo.

Existen tres categorías de TLVs:

TLV-TWA (Threshold Limit Value - Time Weighted Average). (Valor Límite Umbral - Media Ponderada en el Tiempo). Se define como la concentración media ponderada en el tiempo, para una jornada normal de trabajo de 8 horas y una semana laboral de 40 horas, a la que pueden estar expuestos casi todos los trabajadores repetidamente, día tras día, sin presentar efectos adversos.

TLV-STEL (Threshold Limit Value - Short Term Exposure Limit). (Valor Límite Umbral-Límite de Exposición de Corta Duración). Existe un valor de concentración a la que pueden estar expuestos los trabajadores de manera continua durante un corto espacio de tiempo sin sufrir: a) irritación, b) daños crónicos o irreversibles en los tejidos, o c) narcosis en grado suficiente para aumentar la probabilidad de lesiones accidentales, perjudicar la autorrecuperación o reducir sustancialmente la eficacia en el trabajo, y siempre que no se sobrepase el TLV-TWA diario. A esa concentración se le denomina TLV-STEL, y se define como la exposición media ponderada en un tiempo de 15 minutos, que no se debe sobrepasar en ningún momento de la jornada laboral, aún cuando la media ponderada en el tiempo que corresponda a las ocho horas sea inferior al TLV. Las exposiciones superiores al TLV-TWA hasta el valor STEL no deben tener una duración superior a 15 minutos ni repetirse más de cuatro veces al día. Debe haber por lo menos un periodo de 60 minutos entre exposiciones sucesivas de este rango.

TLV-C (Threshold Limit Value - Ceiling). (Valor Límite Umbral - Techo). Es la concentración que no se debe sobrepasar en ningún momento durante la exposición en el trabajo.

Los valores TLV adoptados por la ACGIH para el estireno han cambiado como consecuencia de la revisión de los mismos. Hasta 1997, el TLV-TWA era de 213 mg/m³ (50 ppm) mientras que el valor actual es de 85 mg/m³ (20 ppm), existe también un valor STEL para estireno que equivale al doble del valor TWA.

Los valores MAK (Maximale Arbeitsplatz-Konzentration) o valores de concentración máxima en el lugar de trabajo se definen como la concentración máxima de la sustancia química (sea gas, vapor o materia particulada) en el aire del lugar de trabajo para la cual, generalmente, no se han conocido efectos adversos sobre la salud de los trabajadores ni se causa excesiva irritación incluso cuando la persona se expone repetidamente durante largos periodos de tiempo, 40 horas semanales (o 42 horas si se trata de la media semanal de 4 semanas en empresas con trabajos a turno y cuatro turnos distintos).

Como norma, el valor MAK es una concentración media obtenida por integración de las concentraciones determinadas en periodos de hasta un día de trabajo o una jornada. Los valores MAK se establecen a partir de los conocimientos sobre los efectos para la salud de los agentes químicos; cuando es posible también se tienen en cuenta los aspectos prácticos de los procesos industriales y las pautas de exposición resultantes; los criterios científicos para la prevención de los efectos adversos sobre la salud son decisivos, no así los técnicos o la viabilidad económica.

El requisito previo para el establecimiento de un valor MAK es que se disponga de suficiente información sobre una sustancia en los campos de la toxicología, la medicina del trabajo o la higiene industrial.

Los valores MAK se revisan anualmente al igual que los valores TLV o VLA. El valor MAK para estireno es de 20 ml/m³ (85 mg/m³).

En la Tabla 1.2 se presentan los valores límite ambientales para estireno adoptados por las organizaciones más relevantes y que se encuentran vigentes en la actualidad.

Tabla 1.2 Valores límite ambientales de referencia.

<i>Valor límite ambiental</i>	<i>Valor</i>
VLA-ED	86 mg/m ³
VLA-EC	172 mg/m ³
TLV-TWA	20 ppm
TLV-STEL	40 ppm
MAK	20 ml/m ³

1.6.2 Valores biológicos de referencia

El establecimiento de valores de referencia biológicos está mucho más condicionado a los avances científicos que el de los valores ambientales, puesto que, cuando se supone que un determinado indicador biológico es adecuado para el control de la exposición a un agente, deben determinarse los valores de referencia adecuados para su correcta utilización. Se han publicado numerosos trabajos relacionados con propuestas de adopción de valores límite biológicos, muchos de ellos basados en la aplicación de modelos farmacocinéticos-fisiológicos (122-124) y la mayoría basados en numerosos estudios experimentales realizados con voluntarios o en población laboralmente expuesta (29,112,125,126).

El documento sobre valores límite profesionales en España, publicado por el INSHT (119), define los valores límite biológicos como los valores de referencia para los indicadores biológicos asociados a la exposición global a los agentes químicos. Los VLB son aplicables para exposiciones profesionales de 8 horas diarias durante 5 días a la semana. La extensión de los VLB a periodos distintos al de referencia ha de hacerse considerando los datos farmacocinéticos y farmacodinámicos del agente en particular.

En general, los VLB representan los niveles más probables de los indicadores biológicos en trabajadores sanos sometidos a una exposición global a agentes químicos equivalente, en términos de dosis absorbida, a una exposición exclusivamente por inhalación del orden del VLA-ED. La excepción a esta regla la constituyen algunos agentes para los que los VLA asignados protegen contra efectos no sistémicos. En estos casos, los VLB pueden representar dosis absorbidas superiores a las que se derivarían de una exposición por inhalación al VLA.

Las bases científicas para establecer los VLB pueden derivarse de dos tipos de estudios: a) los que relacionan la intensidad de la exposición con el nivel de un parámetro biológico, y b) los que relacionan el nivel de un parámetro biológico con efectos sobre la salud.

Los VLB no están concebidos para usarse como medida de los efectos adversos ni para el diagnóstico de las enfermedades profesionales.

El documento del INSHT establece, respecto al control biológico, que debe considerarse complementario al control ambiental y, por tanto, ha de llevarse a cabo cuando ofrezca ventajas sobre el uso independiente de este último. Además menciona que el control biológico puede usarse para completar la valoración ambiental, para comprobar la eficacia de los equipos de protección individual o para detectar una posible absorción dérmica y/o gastrointestinal.

El documento del INSHT presenta una lista de valores de referencia y fija para estireno un VLB basado en la medida de sus metabolitos, ácido mandélico y ácido fenilglioxílico en orina. Concretamente propone como límite 600 mg/g creatinina de MA+PGA al final de la jornada del último día de la semana.

Otras organizaciones tienen establecidos también valores de referencia biológicos para estireno. La ACGIH publica los Biological Exposure Indices (BEIs) (120) y la DFG publica los Biological Tolerance Values (BAT) (121).

Los BEIs son valores de referencia para la evaluación de los riesgos potenciales para la salud y representan los niveles de los determinantes biológicos que se corresponden con los determinados en especímenes biológicos de trabajadores, expuestos por vía inhalatoria a una concentración ambiental del contaminante equivalente a su valor límite ambiental (TLV). Los BEIs se proponen como guía para la evaluación del riesgo potencial para la salud en la práctica de la higiene industrial, generado por exposiciones de 8 horas durante 5 días a la semana. Se publican y revisan junto con los TLVs anualmente en forma de tabla en la que, para cada agente químico del que se dispone de un determinante o marcador, se indica además el tipo de espécimen a tomar, el momento o momentos en que debe efectuarse la toma de muestra, el propio valor BEI y unas notaciones que pueden hacer referencia a cuestiones de diferente índole: susceptibilidad individual, especificidad, presencia del determinante en sujetos no expuestos y ambigüedad en la interpretación cuantitativa.

Un BEI no establece una distinción entre una exposición segura y otra peligrosa para la salud, ya que, debido a las variaciones biológicas interindividuales, una medición individualizada de un parámetro biológico puede exceder el BEI sin que ello suponga necesariamente que exista un riesgo para la salud. Sin embargo, si las determinaciones biológicas efectuadas repetidamente en un mismo individuo superan el BEI, o si lo supera la mayoría de las determinaciones biológicas de un grupo de trabajadores expuestos al mismo ambiente laboral, se deben adoptar las medidas necesarias para reducir la exposición.

Los BEIs se basan primariamente en observaciones sobre el ser humano. Las principales fuentes de información tomadas en consideración por la ACGIH son:

1. Mecanismos de absorción, biotransformación y eliminación, tomándose en consideración los datos humanos y animales.
2. Todos los efectos adversos posibles y la farmacodinamia del efecto más significativo, que normalmente es el efecto observado al nivel más bajo de exposición. Se tiene en cuenta el riesgo de la población más vulnerable.
3. Estudios de campo, en los que se relacionan las concentraciones de los determinantes en las muestras biológicas de trabajadores expuestos con la intensidad de la exposición (normalmente medidas ambientales) o con los efectos adversos.
4. Estudios de laboratorio con voluntarios, que proporcionan principalmente datos farmacocinéticos.
5. Estudios de simulación, utilizados para la extrapolación y el establecimiento de correspondencias entre los BEIs y los TLVs.

Los BEIs son, en definitiva, equivalentes a estándares y valores guía para concentraciones de productos químicos en el aire del lugar de trabajo y no están basados en concentraciones observadas en una población.

Los BATs se definen como la máxima cantidad permisible de compuesto químico, sus metabolitos o cualquier desviación de los parámetros biológicos normales inducida por una sustancia en personas expuestas. Se establecen en base a los datos científicos que permiten asegurar que esas concentraciones no tienen efectos adversos para la salud de los trabajadores. Al igual que los límites ambientales, se establecen bajo la suposición de que las personas están expuestas 8 horas diarias y 40 horas semanales. Estos valores se definen en

términos de concentración o velocidad de formación o excreción (cantidad por unidad de tiempo) y se conciben como valores “techo” para la salud, habiéndose tomado en consideración los efectos de las sustancias químicas y un adecuado margen de seguridad. Su utilización sólo es posible para aquellos agentes que pueden penetrar en el organismo por las vías inhalatoria o dérmica. Los datos tenidos en cuenta para su establecimiento deben apoyarse en observaciones sobre humanos, requiriéndose una experiencia suficiente con el compuesto en materia de salud laboral y toxicología.

Los valores BAT proporcionan la base para un juicio del potencial tóxico o seguridad de las cantidades de agentes químicos absorbidos por el organismo en el lugar de trabajo. Estos valores están basados en un criterio de salud, han sido establecidos como límites superiores aceptables y por definición deben ser aplicados como valores techo.

El valor BAT establecido para estireno coincide con el VLB publicado en la lista de valores del INSHT.

En la Tabla 1.3 se presentan los valores límite biológicos para estireno, vigentes en la actualidad, adoptados por las organizaciones mencionadas.

Tabla 1.3 Valores límite biológicos de referencia.

<i>Determinante</i>	<i>Instante de muestreo</i>	<i>Índice</i>	<i>Valor</i>
Ácidos mandélico + fenilgloxílico	Final jornada-último día semana	VLB	600 mg/g creatinina
Ácido mandélico en orina	Final de la jornada	BEI	800 mg/g creatinina
	Inicio de la jornada siguiente	BEI	300 mg/g creatinina
Ácido fenigloxílico en orina	Final de la jornada	BEI	240 mg/g creatinina
	Inicio de la jornada siguiente	BEI	100 mg/g creatinina
Estireno en sangre venosa	Final de la jornada	BEI	0,55 mg/L
	Inicio de la jornada siguiente	BEI	0,02 mg/L
Ácidos mandélico + fenilgloxílico	Final jornada-último día semana	BAT	600 mg/g creatinina

Como se puede apreciar en la tabla, los valores límite biológicos se basan en la medida de los metabolitos principales de estireno en orina y en la medida del estireno en sangre venosa.

1.7 Bibliografía

- 1 Tossavainen A. Styrene use and occupational exposure in the plastic industry. *Scand. J. Work Environ. & Health* 4(2): 7-13. 1978.
- 2 Miller R.R., Newhook R., Poole A. Styrene production, use, and human exposure. *Crit. Rev. Toxicol.* 24(S1): S1-S10. 1994.
- 3 Lenvik K., Osvoll P.O., Woldbaek T. Occupational exposure to styrene in Norway, 1972-1996. *Appl. Occup. Environ. Hyg.* 14: 165-170. 1999.
- 4 Geuskens R.B.M., Van Der Klaauw M.M., Van Der Tuin J., Van Hemmen J.J. Exposure to styrene and health complaints in the dutch glass-reinforced plastics industry. *Ann. Occup. Hyg.* 36(1): 47-57. 1992.
- 5 Soler X. Métodos de construcción HI-TECH en composites. *Ed. Fontanals Composites, Barcelona.* 1991.
- 6 Brydson J.A. Plastic materials. Polyesters. 7th Edition. *Ed. Butterworth Heinemann.* 2000.
- 7 Crandall M.S., Hartle R.W. An analysis of exposure to styrene in the reinforced plastic boat-making industry. *Am. J. Ind. Med.* 8: 183-192. 1985.
- 8 Galassi C., Kogevinas M., Ferro G., Biocca M. Biological monitoring of styrene in the reinforced plastics industry in Emilia Romagna, Italy. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 65: 89-95. 1993.
- 9 Marcuello D., Castellón J.M., Periago, J.F. Exposición laboral a estireno en la fabricación de plásticos reforzados con fibra de vidrio. *Salud y Trabajo* 109: 19-24. 1995.
- 10 Periago F. Esposizione professionale a stirene. Situazione attuale in Spagna. *En Pezzini Editore, "Atti del Convegno. Rischi e Bonifiche nella costruzione di imbarcazione su vetroresina". Viareggio, Italia Vol II 14-19.* 1992.
- 11 World Health Organization. Biological monitoring of chemical exposure in the workplace. Cap 4: Selected solvents. *World Health Organization, Geneva, Italy.* 1996.
- 12 Wigaeus E., Löf A., Bjurström R., Byfält Nordqvist M. Exposure to styrene. Uptake, distribution, metabolism and elimination in man. *Scand. J. Work Environ. & Health* 9: 479-488. 1983.
- 13 Guillemin M.P., Berode M. Biological monitoring of styrene: a review. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 49(10): 497-505. 1988.

- 14 Petreas M.X., Woodlee J., Becker C.E., Rappaport S.M. Retention of styrene following controlled exposure to constant and fluctuating air concentrations. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 67: 27-34. 1995.
- 15 Dutkiewicz T., Tyras H. Skin absorption of toluene, styrene and xylene in man. *Brit. J. Indus. Med.* 25: 243. 1968.
- 16 Limasset J.C., Simon P., Poirot P., Subra I., Grzebyk M. Estimation of the percutaneous absorption of styrene in an industrial situation. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 72: 46-51. 1999.
- 17 Lauwerys R. Toxicología Industrial e Intoxicaciones Profesionales. Ed. Masson, Barcelona. 1994.
- 18 Jenkins Sumner S., Fennell T.R. Review of the metabolic fate of styrene. *Crit. Rev. Toxicol.* 24(S1): S11-S33. 1994.
- 19 Ghittori S., Maestri L., Imbriani M., Capodaglio E., Cavalleri A. Urinary excretion of specific mercapturic acids in workers exposed to styrene. *Am. J. Ind. Med.* 31: 636-644. 1997.
- 20 A.C.G.I.H. BEI: Biological Exposure indices for 1989-1990 TLV-BEI Documentation. *American Conference of Governmental Industrial Hygienists, Cincinnati, Ohio USA.* 1989.
- 21 U.S. Department of Health and Human Services. Toxicological profile for styrene. *Department of health & human services, USA, TP-91/25.* 1992.
- 22 Fernandez J., Caperos J.R. Exposition au styrène I. Etude expérimentale de l'Absorption et de l'excretion pulmonaire chez des sujets humains. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 40: 1-12. 1977.
- 23 Engström J., Bjurström R., Astrand I., Övrum P. Uptake, distribution and elimination of styrene in man. *Scand. J. Work Environ. & Health* 4: 315-323. 1978.
- 24 Pezzagno G., Ghittori S., Imbriani M., Capodaglio E. Urinary elimination of styrene in experimental and occupational exposure. *Scand. J. Work Environ. & Health* 11: 371-379. 1985.
- 25 Stewart R.D., Dodd H.C., Baretta E.D., Schaffer, A.W. Human exposure to styrene vapour. *Arch. Environ. Health* 16: 656. 1968.
- 26 Astrand I., Kilbom A., Övrum P., Wahlberg I., Vesterberg, O. Exposure to styrene I. Concentration in alveolar air and blood at rest and during exercise and metabolism. *Work Environ. Health* 11: 69-85. 1974.

- 27 Cerný S., Mráz J., Flek J., Tichý M. Effect of ethanol on the urinary excretion of mandelic and phenylglyoxylic acids after human exposure to styrene. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 62: 243-247. 1990.
- 28 Wilson H. K., Robertson S. M., Waldron H. A., Gompertz D. Effect of alcohol on the kinetics of mandelic acid excretion in volunteers exposed to styrene vapour. *Brit. J. Indus. Med.* 40: 75-80. 1983.
- 29 Ikeda M., Hirayama T. Possible metabolic interaction of styrene with organic solvents. *Scand. J. Work Environ. & Health* 4(2): 41-46. 1978.
- 30 Kawai T., Yasugi T., Mizunuma K., Horiguchi S., Morioka I., Miyashita K., Uchida Y., Ikeda M. Monitoring of workers exposed to a mixture of toluene, styrene and methanol vapours by means of diffusive air sampling, blood analysis and urinalysis. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 63: 429-435. 1992.
- 31 Dolara P., Lodovici M., Salvadori M., Santoni G., Caderni G., Buiatti E. Y Bavazzano P. Enzyme induction in humans exposed to styrene. *Ann. Occup. Hyg.* 27(2): 183-188. 1983.
- 32 Marhuenda D., Prieto M., Periago J.F., Perbellini J., Cardona A. Biological Monitoring of styrene exposure and possible interference of acetone co-exposure. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 69: 455-460. 1997.
- 33 Apostoli P., Alessandro G., Placidi D., Alessio L. Metabolic interferences in subjects occupationally exposed to binary styrene-acetone mixtures. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 71: 445-452. 1998.
- 34 Mizunuma K., Yasugi T., Kawai T., Horiguchi S., Ikeda M. Exposure-excretion relationship of styrene and acetone in factory workers: A comparison of lipophilic solvent and hydrophilic Solvent. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 25: 129-133. 1993.
- 35 De Rosa E., Cellini M., Sessa G., Saletti C., Rausa G., Marcuzzo G., Bartolucci G.B. Biological monitoring of workers exposed to styrene and acetone. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 65: S107-S110. 1993.
- 36 De Rosa E., Cellini M., Sessa G., Scapellato M.L., Marcuzzo G., Bartolucci G.B. The importance of sampling time and coexposure to acetone in the biological monitoring of styrene-exposed workers. *Appl. Occup. Environ. Hyg.* 11(5): 471-475. 1996.
- 37 Gobba F., Cavalleri F., Bontadi D., Torri P., Dainese R. Peripheral neuropathy in styrene-exposed workers. *Scand. J. Work Environ. & Health* 21: 517-520. 1995.
- 38 Campagna D., Mergler D., Huel G., Bélanger S., Truchon G., Ostiguy C., Drolet D. Visual dysfunction among styrene-exposed workers. *Scand. J. Work Environ. & Health* 21: 382-90. 1995.

- 39 Eguchi T., Kishi R., Harabuchi I., Yuasa J., Arata Y., Katakura Y., Miyake H. Impaired colour discrimination among workers exposed to styrene: relevance of a urinary metabolite. *Occup. Environ. Med.* 52: 534-538. 1995.
- 40 Möller C., Ödkvist L., Larsby B., Tham R., Ledin T., Bergholtz L. Otoneurological findings in workers exposed to styrene. *Scand. J. Work Environ. & Health* 16: 189-194. 1990.
- 41 Morioka I., Kuroda M., Miyashita K., Takeda S. Evaluation of organic solvent ototoxicity by the upper limit of hearing. *Arch. Environ. Health* 54(5): 341-346. 1999.
- 42 Viaene M., Veulemans H., Masschelein R. Experience with a vocabulary test for workers previously and still exposed to styrene. *Scand. J. Work Environ. & Health* 24(4): 308-311. 1998.
- 43 Challenor J., Wright D. Aggression in boat builders: a search for altered mood states in boat builders exposed to styrene. *Occup. Med. (Lond)* 50: 185-192. 2000.
- 44 Roe F.J.C. Styrene: toxicity studies - what do they show?. *Crit. Rev. Toxicol.* 24(S1): S117-S125. 1994.
- 45 Hallier E., Goergens H.W., Hallier K., Bolt H.M. Intervention study on the influence of reduction of occupational exposure to styrene on sister chromatid exchanges in lymphocytes. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 66: 167-172. 1994.
- 46 Holz O., Scherer G., Brodtmeier S., Koops F., Warncke K., Krause T., Austen A., Angerer J., Tricker A.R., Adlkofer F., Rüdiger H.W. Determination of low level exposure to volatile aromatic hydrocarbons and genotoxic effects in workers at a styrene plant. *Occup. Env. Med.* 52: 420-428. 1995.
- 47 Scott D., Preston R.J. A critical review of the cytogenetic effects of styrene with an emphasis on human population monitoring: a synopsis. *Crit. Rev. Toxicol.* 24(S1): S47-S48. 1994.
- 48 I.A.R.C. Styrene. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. *IARC, Lyon, France vol 60.* 1994.
- 49 Wong O., Trent L.S. Mortality from nonmalignant diseases of the respiratory, genitourinary and nervous systems among workers exposed to styrene in the reinforced plastics and composites industry in the United States. *Scand. J. Work Environ. & Health* 25(4): 317-325. 1999.
- 50 Neumann HG., Vamvakas S., Thielmann H.W., Gelbke HP., Filser J.G., Reuter U., Greim H., Kappus H., Norpoth K.H., Wardenbach P., Wichmann H-E. Changes in the classification of carcinogenic chemicals in the work area. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 71: 566-574. 1998.

- 51 Bond G.G., Bodner K.M., Olsen G.W., Cook R.R. Mortality among workers engaged in the development or manufacture of styrene-based products – an update. *Scand. J. Work Environ. & Health* 18: 145-154. 1992.
- 52 Welp E., Partanen T., Kogevinas M., Andersen A., Bellander T., Biocca M., Coggon D., Gennaro V., Kolstad H., Lundberg I., Lynge E., Spence A., Ferro G., Saracci R., Boffeta P. Exposure to styrene and mortality from non-malignant respiratory diseases. *Occup. Environ. Med.* 53: 499-501. 1996.
- 53 Dietrich D.F. Sampling of Gases and Vapors. En Salvatore R. DiNardi (ed.) *The Occupational Environment-Its Evaluation and Control*. AIHA Press. 1997.
- 54 Norma UNE-EN1232: Atmósferas en el lugar de trabajo. Bombas para el muestreo personal de los agentes químicos. Requisitos y métodos de ensayo. 1997.
- 55 Norma UNE-EN1076: Atmósferas en el lugar de trabajo. Tubos adsorbentes para la determinación de gases y vapores captados mediante bombeo. Requisitos y métodos de ensayo. 1997.
- 56 Palmes E.D., Gunnison A.F. Personal monitoring devices for gaseous contaminants. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 33(6): 78-81. 1973.
- 57 I.N.S.H.T. Protocolo de validación de muestreadores pasivos por difusión. *INSHT, Barcelona MTA/PV-II/90*. 1991.
- 58 Norma UNE-EN 838: Atmósferas en el lugar de trabajo. Muestreadores pasivos por difusión para la determinación de gases y vapores. Requisitos y métodos de ensayo. 1995.
- 59 Firth J.G. HSE Protocol for assessing performance. En Berlin A., Brown RH., Saunders K.J., (ed.) *Diffusive sampling. An alternative approach to workplace air monitoring*. Royal Society of Chemistry, London 177-184. 1987.
- 60 Periago J.F., Gonzalez E. Estudio del mecanismo de difusión aplicado a la captación de contaminantes ambientales a concentraciones variables. *Actas del IX Congreso Nacional de Medicina, Higiene y Seguridad en el Trabajo. Palma de Mallorca* 441-450. 1980.
- 61 Periago J.F. Sistemas de muestreo por difusión. *Actas de la II Conferencia Nacional de Higiene Industrial* 475-490. 1988.
- 62 Bartolucci G.B., Perbellini L., Gori G.P., Brugnone F., Chiesura Corona P., De Rosa E. Occupational exposure to solvents: field comparison of active and passive samplers and biological monitoring of exposed workers. *Ann. Occup. Hyg.* 30(3):295-306. 1986.
- 63 Brown R.H., Saunders K.J., Walkin K.T. A personal sampling method for the determination of styrene exposure. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 48(9): 760-765.1987.

- 64 Bartolucci G.B., Perbellini L., Gori G.P., Brugnone F., De Rosa E. Field Comparison of charcoal tubes and passive dosimeters for the determination of solvents in air.. *En Berlin A., Brown RH., Saunders K.J., (ed.) Diffusive sampling .An alternative approach to workplace air monitoring. Royal Society of Chemistry, London 228-230. 1987.*
- 65 Hagberg S., Nordlinder R., Sällsten G. Field comparison of Charcoal tubes and Passive Vapor Monitors for Organic Vapors. *En Berlin A., Brown RH., Saunders K.J., (ed.) Diffusive sampling. An alternative approach to workplace air monitoring. Royal Society of Chemistry, London 242-245. 1987.*
- 66 Saarinen L., Rothberg M., Bäck B. Comparison of Diffusive Samplers and Charcoal Tube Method under Field Conditions. *En Berlin A., Brown RH., Saunders K.J., (ed.) Diffusive sampling. An alternative approach to workplace air monitoring. Royal Society of Chemistry, London 259-261. 1987.*
- 67 Periago J.F., Morente A. Estudio comparativo de muestreadores pasivos y activos en atmósferas laborales. *Actas del XI Congreso Nacional de Medicina, Higiene y Seguridad en el Trabajo. Madrid 1987b: 73-79.1987.*
- 68 Periago J.F. Field comparison of charcoal tubes and diffusive samplers for determination of n-hexane and toluene in air. *The Diffusive Monitor. 1989.*
- 69 Berlin A., Yodaiken R.E., Logan D.C. International Seminar on the Assessment of Toxic Agents at the Workplace. Roles of Ambient and Biological Monitoring. *Int. Arch. Occup. Environ. Health 50: 197-201. 1982.*
- 70 Obiols J. Control Biológico de los trabajadores expuestos a contaminantes químicos. *INSHT, Barcelona, 1998.*
- 71 Que Hee S.S. Biological Monitoring. *En Salvatore R. DiNardi (ed.) The Occupational Environment-Its Evaluation and Control. AIHA Press. 1997.*
- 72 Lowry L.K., Rosenberg J., Fiserova-Bergerova V. Biological monitoring III: Measurements in Blood. *Appl. Ind. Hyg. 4: F11-F13. 1989.*
- 73 Wallach J. Interpretation of diagnostics tests. *Little, Brown, & co. Boston, USA. 1986.*
- 74 Rosemberg J., Fiserova-Bergerova V., Lowry L.K. Biological Monitoring IV: Measurements in urine. *Appl. Ind. Hyg. 4: F16-F20. 1989.*
- 75 Boeninger M., Lowry L., Rosemberg J. Interpretation of urine results used to assess chemical with emphasis on creatinine adjustments: a review. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 54: 615-627. 1993.*
- 76 Allesio L., Berlin A., Dellörto A. Reliability of urinary creatinine as a parameter used to adjust values of urinary biological indicators. *Int. Arch. Occup. Environ. Health 55: 99-106. 1985.*

-
- 77 Ghittori S., Imbriani M., Pezzagno G., Capodaglio E. The urinary concentration of solvents as a biological indicator of exposure: proposal for the biological equivalent exposure limit for nine solvents. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 48: 786-790. 1987.
- 78 Gobba F., Galasi M., Ghitori S., Imbriani M., Pugliese F., Cavalleri A. Urinary styrene in the biological monitoring of styrene exposure. *Scand. J. Work Environ. & Health* 19: 175-182. 1993.
- 79 Kawai T., Mizunuma K., Okada Y., Horiguchi S., Ikeda M. Toluene itself as the best urinary marker of toluene exposure. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 68: 289-297. 1996.
- 80 Periago J.F., Luna A., Morente A., Zambudio A. Design and evaluation of an exhaled breath sampler for biological monitoring of organic samples. *J. Appl. Toxicol.* 12: 91-96. 1992.
- 81 Wilson H.K. Breath analysis: Physiological basis and sampling techniques. *Scand. J. Work Environ. & Health* 12: 174-192. 1986.
- 82 Periago J.F. Control biológico de disolventes mediante aire exhalado. *INSHT, Madrid*. 1991.
- 83 Fiserova-Bergerova V., Lowry L., Rosemberg J. Biological monitoring II: measurement in exhaled air. *Appl. Ind. Hyg.* 4: F10-F13. 1989.
- 84 Waritz R. S. Biological indicators of chemical dosage and burden. *En Cralley LJ, Cralley LV, Patty's Industrial Hygiene and Toxicology, 2ª edición. Ed. John Wiley & sons. New York, USA. Vol 3B.* 1985.
- 85 Droz P.O. Biological monitoring I: Sources of Variability in Human Response to Chemical Exposure. *Appl. Ind. Hyg.* 4: F20-F24. 1989.
- 86 Fields R.L., Horstman S.W. Biomonitoring of industrial styrene exposures. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 40: 451-458. 1979.
- 87 De Rosa E., Bartolucci G.B., Perbellini L., Brugnone F., Rausa G. Environmental and biological monitoring of exposure to toluene, styrene, and n-hexane. *Appl. Ind. Hyg.* 3,12: 332-337. 1988.
- 88 Symanski E., Bergamaschi E., Mutti A. Inter and intra-individual sources of variation in levels of urinary styrene metabolites. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 74: 336-344. 2001.
- 89 Ong C.N., Shi C.Y., Chia S.E., Chua S.C., Ong H.Y., Lee B.L., Ng T.P., Teramoto K. Biological monitoring of exposure to low concentrations of styrene. *Am. J. Ind. Med.* 25: 719-730. 1994.

- 90 Pekari K., Nylander-French L., Pfäffli P., Sorsa M., Aitio A. Biological Monitoring of Exposure to Styrene- Assessment of Different Approaches. *J. Occup. Med. Toxicol.* 2(2): 115-126. 1993.
- 91 Maestri L., Mestad I.J., Imbriani M. Mercapturates and biological monitoring: styrene. *G. Ital. Med. Lav. Ergon*, 21: 334-340. 1999.
- 92 Brugnone F., Perbellini L., Gaffuri E., Apostoli P. Biomonitoring of industrial solvent exposures in workers' alveolar air. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 47: 245-251. 1980.
- 93 Rappaport S.M., Kure E., Petreas M., Ting D., Woodlee J. A field method for measuring solvent vapors in exhaled air- application to styrene exposure. *Scand. J. Work Environ. & Health* 17: 195-204. 1991.
- 94 Wilson H.K., Monster A.C. New technologies in the use of exhaled breath analysis for biological monitoring. *Occup. Environ. Med.* 56: 753-757. 1999.
- 95 Periago J.F., Prado C., Ibarra I., Tortosa J. Application of thermal desorption to the biological monitoring of organic compounds in exhaled breath. *J. Chromatogr. A* 657: 147-153. 1993.
- 96 Brugnone F., Perbellini L., Wang G.Z., Maranelli G., Raineri E., De Rosa E., Saletti C., Soave C., Romeo L. Blood styrene concentrations in a "normal" population and in exposed workers 16 hours after the end of the workshift. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 65: 125-130. 1993.
- 97 Engström J., Astrand I., Wigaeus E. Exposure to styrene in a polymerization plant. Uptake in the organism and concentration in subcutaneous adipose tissue. *Scand. J. Work Environ. & Health* 4: 324-329. 1978.
- 98 Peng C.Y., Batterman S. Performance evaluation of a sorbent tube sampling method using short path thermal desorption for volatile organic compounds. *J Environ. Monitor.* 2(4): 313-324. 2000.
- 99 Tolnai B., Barko G. Evaluation of Carboxpack B adsorbent for the tube-type diffusive sampling of volatile organic compounds at ambient concentration. *Analyst*, 124 (12): 1859-1863. 1999.
- 100 Clement R.E., Yang P.W., Koester C.J. Environmental Analysis. *Anal. Chem.* 73: 2761-2790. 2001.
- 101 David P.A., Pauls R.E. Application of portable gas chromatography for air and water monitoring. *Process. Control Qual.* 5: 151-158. 1993.
- 102 McClennen W.H., Vaughn C.L., Cole P.A., Sheya S.N., Wager D.J., Matt T.J., Dworzanski J.P., Arnold N.S., Menzelaar H.L.C. Roving GC/MS. Mapping VOC gradients and trends in space and time. *Field Anal. Chem. Technol.* 1: 109-116. 1996.

- 103 Namiésnik J. Trends in environmental analytics and monitoring. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 30(2&3): 221-269. 2000.
- 104 Adkins J.E., Henry N.W. Industrial Hygiene. *Anal Chem.* 67: 349R-376R. 1995.
- 105 Harper M., Glowacki C.R, Michael P.R. Industrial Hygiene. *Anal Chem.* 69: 307R-327R. 1997.
- 106 Draper W.M., Ashley K., Glowacki C.R., Michael P.R. Industrial Hygiene Chemistry: Keeping pace with rapid change in the workplace. *Anal. Chem.* 71: 33R-60R. 1999.
- 107 Draper W.M. Biological Monitoring: exquisite research probes, risk assesment, and routine exposure measurement. *Anal. Chem.* 73: 2745-2760. 2001.
- 108 Ghittori S., Fiorentino M.L., Maestri L. Urinary excretion of unmetabolized benzene as an indicator of benzene exposure. *J. Toxicol. Environ. Health* 38: 233-243. 1993.
- 109 Kok P.W., Ong C.N. Blood and uinary benzene determined by headspace gas chromatography with photoionization detection. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 66: 195-201.1994.
- 110 Periago J.F., Prado C., Luna A. Purge and trap method for the determination of styrene in urine. *J. Chromatogr. A* 719: 53-58. 1996.
- 111 Periago J.F., Prado C., Ibarra I. Application of thermal desorption to the biological monitoring of organic compounds in exhaled breath. *J. Chromatogr. A* 657: 147-153. 1993.
- 112 Prado C., Tortosa J.A., Ibarra I., Periago J.F. Biological monitoring of occupational exposure to isoflurane by measurement of isoflurane exhaled breath. *J. Appl. Toxicol.* 17: 179-183. 1997.
- 113 Robards K., Hadad P.R., Jackson P.E. Principles and practice of modern chromatographic methods. Academic Press, London UK. 2001.
- 114 Orden de 9 de abril de 1986, por la que se aprueba el Reglamento para la Prevención de Riesgos y Protección de la Salud por la presencia de cloruro de vinilo monómero en el ambiente de trabajo.
- 115 Real Decreto 374/2001, de 6 de abril de 2001, sobre la protección de la salud y seguridad de los trabajadores contra los riesgos relacionados con los agentes químicos durante el trabajo.
- 116 Real Decreto 363/1995, de 10 de Marzo de 1995, por el que se regula la Notificación de Sustancias Nuevas y Clasificación, Envasado y Etiquetado de Sustancias Peligrosas.

- 117 Real Decreto 1078/1993, de 2 Julio de 1993, por el que se regula la Clasificación, Envasado y Etiquetado de Preparados Peligrosos.
- 118 I.N.S.H.T. Limites de Exposición Profesional para Agentes Químicos en España. 1999-2000. *INSHT, Madrid*. 1999.
- 119 I.N.S.H.T. Limites de Exposición Profesional para Agentes Químicos en España. 2001-2002. *INSHT, Madrid*. 2001.
- 120 A.C.G.I.H. Threshold limit values (TLVs) for chemical substances and physical agents and biological exposure indices (BEIs). *ACGIH Cincinnati, Ohio USA*. 2000.
- 121 D.F.G. List of MAK and BAT Values. Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area. *VCH Verlagsgesellschaft mbH Weinheim, Germany*. 2002.
- 122 Fiserova-Bergerova V. Application on toxicokinetic models to establish biological exposure indicators. *Ann. Occup. Hyg.* 34: 639-651.1990.
- 123 Smith T.J. Pharmacokinetics models in the development of exposure indicators in toxicology. *Ann. Occup. Hyg.* 35: 543-560. 1991.
- 124 Leung H. Use of physiologically based pharmacokinetics models to stablish biological exposure indices. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 53: 369-374. 1992.
- 125 Perbellini L., Romeo G., Maranelli G., Zardini G., Alexopoulos C., Brugnone F. Biological Monitoring of Fluctuating Occupational Exposures to Styrene. *Med. Lav.* 81,5: 382-389. 1990.
- 126 Kawai T., Yasugi T., Mizunuma K., Horiguchi S., Iguchi H., Uchida Y., Iwami O., Ikeda M. Comparative evaluation of urinalysis and blood analysis as means of detecting exposure to organic solvents at low concentrations. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 64: 223-234. 1992.

2

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

La finalidad de este trabajo ha sido realizar y desarrollar las metodologías necesarias para la elaboración de un programa de control ambiental y biológico de la exposición a estireno, desde la elaboración y puesta a punto de los métodos de toma de muestras y análisis hasta la posterior utilización de los métodos elaborados sobre una población laboralmente expuesta y la propuesta de valores límite biológicos.

Este fin se concreta en los siguientes objetivos:

1. Desarrollar y validar dos métodos para la evaluación de estireno en aire mediante la captación con muestreadores pasivos por difusión para desorción con disolvente y para desorción térmica, respectivamente, y análisis por cromatografía de gases.
2. Desarrollar y validar un método para la determinación de estireno en aire exhalado mediante captación en tubo adsorbente, desorción térmica y cromatografía de gases.
3. Desarrollar y validar un método para la evaluación de estireno en orina mediante purga y trampa usando tubos adsorbentes para desorción térmica y cromatografía de gases.
4. Realizar un análisis comparativo de los métodos de control ambiental validados en una población expuesta en empresas dedicadas a la fabricación de piezas de poliéster reforzado con fibra de vidrio.
5. Realizar la evaluación toxicológica de la dosis externa e interna en una población expuesta laboralmente.
6. Estudiar la correlación entre los valores ambientales y los indicadores biológicos de exposición para proponer valores límite biológicos de referencia basados en el valor límite ambiental.
7. Analizar la aplicación de los valores límite biológicos a exposiciones inferiores a 8 horas, que son las más habituales en pequeñas y medianas empresas.

3

EVALUACIÓN DE ESTIRENO EN AIRE MEDIANTE MUESTREADORES PASIVOS PARA DESORCIÓN CON DISOLVENTE Y CROMATOGRFÍA DE GASES

3 EVALUACIÓN DE ESTIRENO EN AIRE MEDIANTE MUESTREADORES PASIVOS PARA DESORCIÓN CON DISOLVENTE Y CROMATOGRAFÍA DE GASES

3.1 Introducción

La evaluación de la exposición a agentes químicos en el lugar de trabajo requiere la determinación de la concentración de esos compuestos en la atmósfera de dicho lugar, esto último se puede llevar a cabo utilizando muestreadores pasivos por difusión. Para el empleo de este tipo de dispositivos se precisa conocer una constante que recibe el nombre de caudal o velocidad de captación (U). Como ya se comentó anteriormente, esta constante es característica para cada compuesto químico y cada modelo de muestreador porque engloba la constante de diseño geométrico del mismo y el coeficiente de difusión del compuesto.

La velocidad de captación permite relacionar la masa de contaminante recogida con la concentración ambiental del mismo. Idealmente el valor de U es constante, sin embargo, puede variar ligeramente con los cambios de concentración, tiempo de exposición del muestreador, humedad, etc. Por todo ello, es necesario someter cada modelo de muestreador a un estudio de validación donde se determina U bajo una variedad de condiciones experimentales y se evalúan aspectos tales como la eficacia de desorción, el tiempo de almacenamiento o la difusión reversa (1,2). En 1991 el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo estableció un protocolo de validación de muestreadores pasivos por difusión de compuestos volátiles en aire (3), en el que se especifican los requisitos generales de comportamiento que deben cumplir los procedimientos de medida para la determinación de la concentración de gases y vapores orgánicos en el aire en los lugares de trabajo. El ámbito de aplicación de este protocolo abarca a todos aquellos dispositivos de medida con etapas separadas de captación por difusión con adsorción en un sólido y posterior análisis.

El desarrollo de distintas experiencias permitirá conocer la velocidad de captación y los valores de sesgo y precisión alcanzables en condiciones de laboratorio definidas.

El objetivo de este capítulo es describir las experiencias realizadas con el fin de determinar la velocidad de captación del muestreador 3M-3500 para

estireno y la influencia sobre la misma de las variables asociadas con el ambiente y con la técnica de muestreo. También se han realizado “ensayos en campo”, en condiciones típicas de utilización para analizar la posible existencia de diferencias sistemáticas con un muestreador dinámico.

3.2 Materiales y métodos

3.2.1 Método de toma de muestras

Se ha elegido para la toma de muestras un sistema basado en el muestreo pasivo y la posterior desorción con disolvente:

El muestreador 3M-3500 (3M), cuyo esquema puede verse en la figura 3.1, se comercializa para muestreo pasivo de vapores orgánicos (4) y es útil para la captación de estireno. Se trata de un dispositivo cilíndrico de plástico, en el fondo del cual hay una lámina de carbón activo. El fenómeno de la difusión,

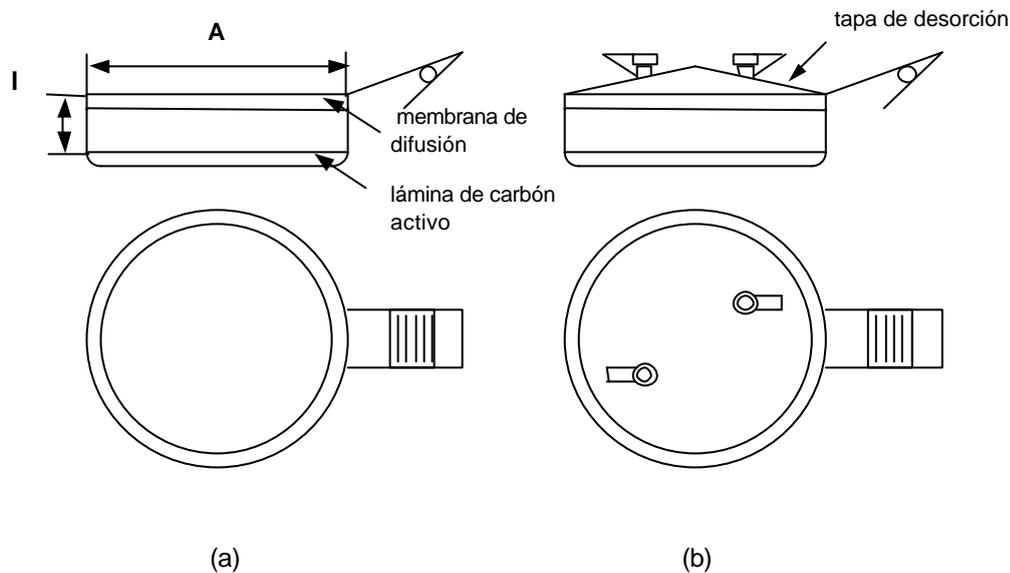


Figura 3.1 Esquema del muestreador pasivo 3M-3500.

descrito en el apartado 1.4, se produce a través de una membrana. Las dimensiones del muestreador son 32 mm de diámetro interno, su longitud de difusión (l) es de 9,5 mm y su área de difusión (A) es de 5 cm². El muestreador se suministra en un envase cerrado herméticamente y al vacío, preparado para la

toma de muestra. Para su almacenamiento posterior a la toma, la membrana de difusión y el anillo que la sujeta, se reemplazan por una tapadera (tapa de desorción, figura 3.1b) que presenta dos orificios con dos tapones. Una vez en el laboratorio, a través de estos orificios se adiciona el disolvente para la desorción del estireno adsorbido en cada experiencia. En la figura 3.2 se muestra una reproducción del muestreador 3M-3500.



Figura 3.2 Muestreador pasivo 3M-3500.

Mediante la exposición de este muestreador en una atmósfera que contiene estireno, se puede conocer la concentración media ambiental de dicho compuesto en el intervalo de tiempo que dura la exposición. No es necesario el uso de bombas de aspiración puesto que el contaminante se deposita en el interior del muestreador por difusión. El adsorbente utilizado es una lámina de carbón activo. A partir de la cantidad de estireno adsorbida, que depende del tiempo de muestreo y se determina mediante desorción con disolvente y análisis cromatográfico, se puede obtener un valor de concentración ambiental media utilizando su velocidad de captación específica (U).

Durante el proceso de evaluación, además del muestreador pasivo, se ha empleado un sistema de muestreo dinámico para captación de estireno consistente en un tubo de vidrio relleno de carbón activo unido a una bomba de aspiración (SKC). Los tubos de vidrio miden 110 mm de largo y 8 mm de

diámetro, se encuentran rellenos con carbón activo de 20/40 mallas y se dividen en dos secciones de 400 y 200 mg cada una (SKC). Las dos secciones se encuentran separadas entre sí 4 mm, la sección de 200 mg se utiliza para comprobar la posible saturación del muestreador. Previo a su utilización, el tubo se encuentra en forma de ampolla de modo que, para recoger la muestra de aire, se deben romper los extremos de la misma. Una vez finalizado el muestreo, se cubren los extremos del tubo con tapones de plástico para su transporte y almacenamiento. La calibración de las bombas se realizó utilizando una bureta de gases. El caudal de aspiración se fijó para todos los muestreos en 200 ml/min, midiéndose rigurosamente en cada toma de muestra particular utilizando un flujómetro digital (Scientific Glass Engineering). En la figura 3.3 se muestra una reproducción del sistema utilizado.



Figura 3.3 Sistema de muestreo dinámico.

3.2.2 Condiciones de desorción y análisis

Una vez finalizada la captación, se debe analizar la masa adsorbida en el muestreador. En primer lugar, se realiza la desorción del estireno empleando para ello un disolvente. Para la elección del disolvente se tienen en cuenta las características del adsorbente y del agente químico, así como la técnica analítica a utilizar y las condiciones en las que se pretende realizar la medida. En

segundo lugar, se procede al análisis del estireno en la disolución obtenida mediante cromatografía gaseosa.

Las condiciones de desorción utilizadas para el muestreador 3M-3500 fueron las recomendadas por su fabricante (4) y consistieron en la adición a través de los orificios de la tapa de desorción de 1,5 ml de disulfuro de carbono (PA Merck) como agente desorbente sobre la lámina de carbón activo. La disolución desorbente se mantuvo durante 30 minutos en contacto con la lámina adsorbente realizando agitaciones periódicas del sistema para que la desorción transcurriera adecuadamente. En la figura 3.4 se muestra una reproducción del muestreador preparado para la desorción.



Figura 3.4 Muestreador pasivo 3M-3500 preparado para desorción.

Las condiciones de desorción para los muestreadores dinámicos son semejantes a las descritas para el muestreador pasivo, salvo que, en este caso, el adsorbente se debe trasvasar desde el tubo de vidrio a un recipiente en el que se realiza la desorción con 3 ml de CS_2 . El resto del proceso es idéntico al descrito, 30 minutos de desorción realizando agitaciones periódicas.

Las disoluciones resultantes de la desorción de ambos muestreadores se analizaron utilizando un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard 5890 (Agilent

Technologies) equipado con una columna de Apiezon L (Agilent Technologies). Para el análisis se utilizó N₂ (N55) como gas portador y se programó un gradiente de temperatura desde 75 a 150°C a razón de 15°C/min. Se utilizó un detector de ionización a la llama (FID). El calibrado para el rango de concentraciones esperado se realizó empleando disoluciones estándar de estireno (PS Merck) en CS₂ al que previamente se le había adicionado n-propilbenceno (PS Merck) (0,1% V/V) como patrón interno.

3.2.3 Determinación de la eficacia de desorción

Se define la eficacia de desorción como la relación entre la masa de contaminante recuperada de un muestreador y la masa adsorbida por el mismo (1). Estos valores de masa deberían ser idénticos si la desorción fuera completa pero en condiciones reales no sucede así, por lo que debe calcularse para cada compuesto.

Para determinar la eficacia de desorción se retiró la tapa de difusión de seis muestreadores nuevos y se les adicionó a todos una misma cantidad conocida de estireno utilizando una jeringa calibrada de 10 µl, a continuación se cerró la tapa de desorción de todos ellos asegurándose de que el cierre fuera hermético. Paralelamente, con la misma jeringa se adicionaron cantidades idénticas de estireno a tres viales de vidrio que contenían 1,5 ml de disolución desorbente, disulfuro de carbono con un 0,1% de n-propilbenceno (V/V). Estos viales se cerraron y se conservaron en el frigorífico a 4°C. Transcurridas 24 horas, se adicionó a cada uno de los muestreadores 1,5 ml de la disolución desorbente y se procedió a la desorción siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 3.2.2. Finalizada la desorción se analizaron las disoluciones procedentes de viales y muestreadores y se determinó la masa de estireno presente en las mismas siguiendo el procedimiento analítico descrito anteriormente.

Para determinar la eficacia de desorción de los tubos rellenos de carbón activo para muestreo dinámico se procedió de igual forma a lo descrito para los muestreadores 3M-3500, con la salvedad de que en este caso se utilizaron 3 ml de la disolución desorbente. Se utilizaron seis tubos rellenos de adsorbente y tres disoluciones de referencia. Las condiciones de desorción y análisis se describieron en el apartado 3.2.2.

El coeficiente de recuperación o desorción, d , se calcula mediante la expresión:

$$d = \frac{m}{m_v} \quad \text{Eq. 3.1}$$

donde:

m es la cantidad promedio analizada en los muestreadores y

m_v es la cantidad promedio analizada en los viales.

3.2.4 Determinación de la velocidad de captación

De acuerdo con lo descrito en el apartado 1.4.1, la concentración ambiental se obtiene mediante la expresión:

$$C_a = \frac{m_a}{t \times U} \quad \text{Eq. 3.2}$$

donde:

C_a es la concentración ambiental,

m_a es la masa de contaminante retenida en el muestreador,

t es el periodo que dura el muestreo y

U es la velocidad de captación.

Esta ecuación, obtenida a partir de la Ley de Fick, permite obtener la concentración ambiental, siempre que se conozca la velocidad de captación, U .

La velocidad de captación, depende entre otros aspectos del coeficiente de difusión del compuesto a muestrear. La disponibilidad de coeficientes de difusión experimentales es limitada y, a veces, los datos publicados para un mismo compuesto por distintas fuentes son discrepantes. Por ello, se realizó la determinación experimental de la velocidad de captación bajo condiciones de concentración ambiental y tiempo de muestreo conocidos y controlados, para lo cual fue necesario disponer de un sistema generador de atmósferas de concentración conocida.

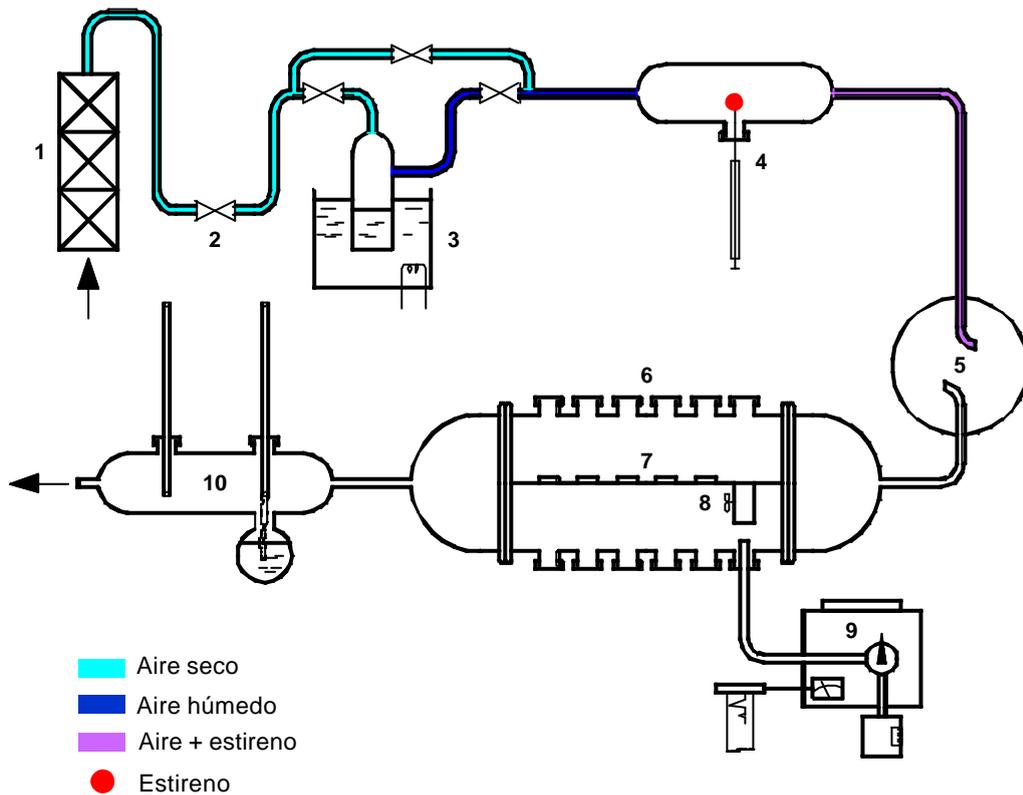
El uso de este sistema permite obtener el valor de U de un muestreador tras exponerlo a la concentración ambiental generada durante un periodo de

tiempo conocido y analizar la masa recogida. Para su cálculo se emplea la ecuación 3.3, que se obtiene de despejar U en la ecuación 3.2.

$$U = \frac{m_a}{t \times C_a} \quad \text{Eq. 3.3}$$

Sistema generador de atmósferas de concentración conocida

El esquema del sistema utilizado para la validación de los muestreadores pasivos se recoge en la figura 3.5, consta de las siguientes partes:



- 1 Sistema de purificación de aire comprimido
- 2 Entrada de aire (válvula de aguja)
- 3 Humidificador
- 4 Inyector automático de jeringa
- 5 Cámara de mezcla
- 6 Cámara de muestreo
- 7 Muestreadores pasivos
- 8 Ventilador
- 9 Cromatógrafo de gases
- 10 Sistema de medición de humedad

Figura 3.5 Esquema de la instalación de la atmósfera controlada.

-Sistema de purificación de aire comprimido (1). El aire entra al sistema procedente de un compresor, es necesario por tanto purificarlo, lo que se realiza mediante un doble filtro de carbón activo y gel de sílice (Agilent Technologies), que garantiza la ausencia de compuestos orgánicos y una humedad prácticamente nula.

-Válvula de aguja (2), que permite regular el caudal total de aire que pasa por el sistema.

-Humidificador (3). Mediante este dispositivo se consigue, que la corriente de aire tenga una humedad relativa predeterminada. Esto se realiza mediante un “by pass” que permite el paso del caudal de aire a través de un recipiente que contiene agua y que está sumergido en un baño termostático. Regulando la temperatura del baño, se puede controlar la humedad relativa del caudal total de aire.

-Inyector automático de jeringa (4), que permite la adición de un flujo másico constante de un contaminante o mezcla de contaminantes, mediante el movimiento del émbolo de una jeringa. El caudal inyectado es regulable entre 0,021 $\mu\text{l}/\text{min}$ y 126 ml/min , lo que permite obtener un amplio rango de concentraciones. El contenido de la jeringa se inyecta a través de un septum a la línea de aire. Si la velocidad de inyección es muy elevada es necesario calentar el punto de aplicación de la jeringa para facilitar la evaporación del líquido. En la figura 3.6 se muestra una reproducción del inyector automático.



Figura 3.6 Inyector automático de jeringa.

-**Cámara de mezcla (5)**. Es una pequeña esfera de vidrio en la cual se consigue una mezcla homogénea de aire y contaminante.

-**Cámara de muestreo (6)**. Es un cilindro de vidrio de 52 cm de longitud y 14 cm de diámetro que tiene un tabique longitudinal de separación, sobre el que se depositan los muestreadores pasivos (7), comunicándose las secciones superior e inferior por las tapas semiesféricas de los extremos. Éstas, aunque son desmontables, tienen un ajuste de vidrio esmerilado, que las hace herméticas una vez montadas. Cada una de las tapas tiene en el centro un orificio con cabeza roscada, para conectar la entrada y salida de la corriente de aire a la cámara. En la figura 3.7 se muestra un esquema del despiece de la cámara de muestreo.

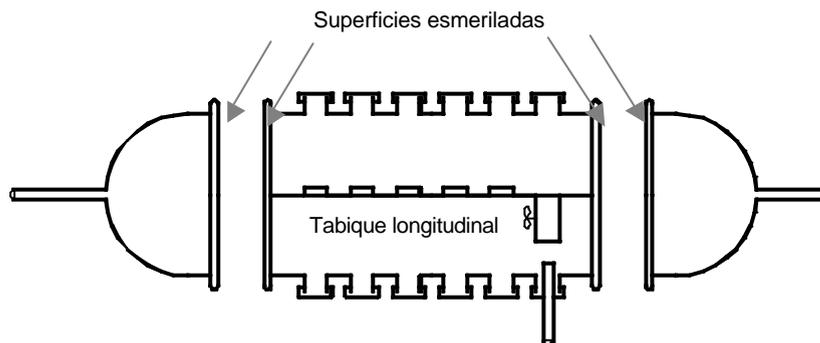


Figura 3.7 Despiece de la cámara de muestreo del sistema generador de atmósferas.

Un pequeño ventilador (8), instalado en el interior de la cámara, permite la agitación del aire creando una corriente que se mueve en torno al tabique de separación, la velocidad del aire se controla mediante un regulador externo de modo que tenga un valor entre 0,7 y 1 m/s sobre la cara del muestreador.

A lo largo de la pared exterior, en las zonas situadas encima y debajo del tabique de separación, la cámara dispone de una serie de bocas de vidrio con cabeza roscada y tapón ajustable para poder conectar a la misma cualquier dispositivo o sistema de captación. Un termómetro mide la temperatura del

aire en la cámara. En la figura 3.8 se muestra una reproducción de la cámara de muestreo.

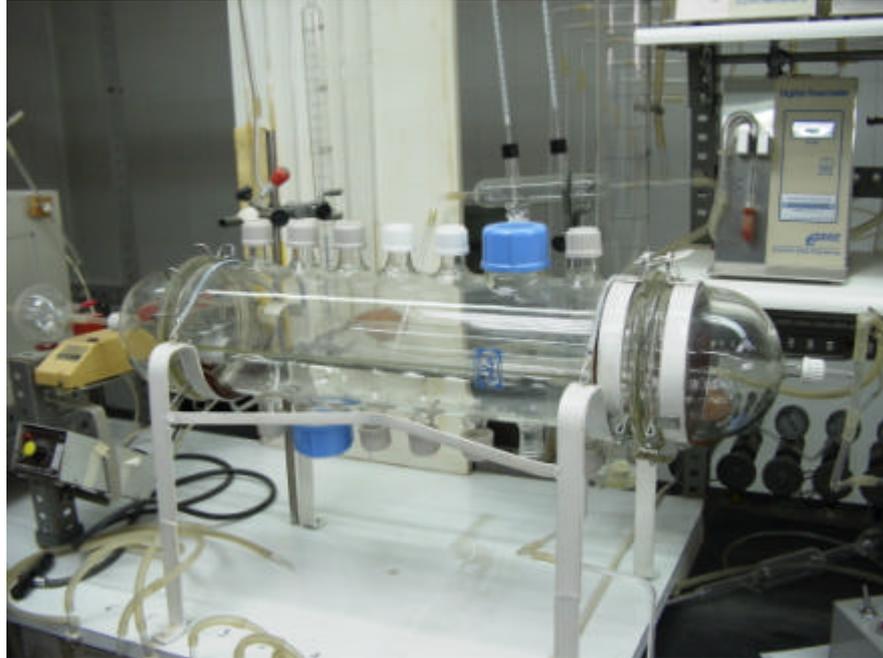


Figura 3.8 Cámara de muestreo.

-Conexión al cromatógrafo (9). Se realiza utilizando un tubo de vidrio unido por un extremo a una boca de vidrio de la cámara y por el otro a la entrada de la válvula de gases de un cromatógrafo. Esta válvula permite realizar inyecciones periódicas de un volumen de 5 ml de gas a la cabeza de la columna cromatográfica. La medida del área de los picos en inyecciones sucesivas permite controlar la evolución de la concentración de la atmósfera y calcular su precisión en función del tiempo. Para vencer la pérdida de carga del sistema, incluyendo la válvula de gases, se conecta una bomba de aspiración de bajo caudal (SKC) en la línea de retorno de la válvula.

-Sistema de medición de humedad (10). Está instalado a la salida de la cámara de muestreo y permite determinar la temperatura seca y húmeda, esta última mediante un termómetro de bulbo húmedo conectado a una muselina y un depósito auxiliar de agua. La humedad relativa se determina, en función de las dos temperaturas mencionadas.

La medición del caudal de aire que pasa por la cámara se realiza mediante una bureta graduada de gases, conectada con el tubo de salida del medidor de humedad, la cual permite calcular en cualquier momento el caudal en la línea.

La concentración teórica de estireno en la atmósfera, C , expresada en mg/m^3 , se puede conocer teniendo en cuenta la ecuación 3.4:

$$C = \frac{F \times d}{Q} \times 10^3 \quad \text{Eq. 3.4}$$

donde:

F es el caudal de la jeringa en ml/min ,

d es la densidad en mg/ml y

Q es el caudal de aire en l/min .

La elección de la jeringa para el ensayo depende de dos variables: por un lado del valor de flujo másico o velocidad de inyección necesarios para conseguir la concentración deseada de estireno y por otro del tiempo que dure la experiencia, de esta manera el volumen total de la jeringa tiene que ser superior al volumen V (ml) que se obtiene de la ecuación 3.5:

$$V = F \times t \quad \text{Eq. 3.5}$$

donde:

F es el caudal de la jeringa en ml/min y

t es el tiempo de duración de la experiencia en minutos.

La precisión de la concentración de la atmósfera se midió durante cada experiencia, para ello se realizaron inyecciones de un volumen conocido de aire procedente de la cámara de atmósferas controladas al cromatógrafo de gases conectado en línea. El coeficiente de variación de la concentración de la atmósfera durante todos los ensayos, fue inferior al 4%.

En las experiencias con muestreadores, la concentración verdadera se obtuvo mediante la corrección del valor teórico en función de la disminución de masa debida a la captación por los propios muestreadores, lo cual se evaluó mediante la diferencia en la respuesta cromatográfica en las inyecciones realizadas antes y después de la introducción de los muestreadores en la cámara.

La concentración se verificó mediante un método independiente basado en el empleo del sistema de muestreo dinámico descrito en 3.2.1.

En cada experiencia se utilizaron seis tubos rellenos de carbón activo durante tiempo suficiente para recoger en los mismos una masa de estireno adecuada para el análisis. Las condiciones experimentales de desorción y análisis se describieron en el apartado 3.2.3. El valor de concentración, C , expresado en mg/m^3 se calculó mediante la ecuación siguiente:

$$C = \frac{m \times d}{Q \times t} \times 10^6 \quad \text{Eq. 3.6}$$

donde:

m es la masa analizada en mg ,

d es el coeficiente de desorción en tanto por uno,

Q es el caudal en ml/min y

t es el tiempo de duración del muestreo en minutos.

En todos los casos la diferencia entre la concentración medida mediante el método independiente y la concentración teórica calculada a partir del flujo de aire y la velocidad de la jeringa de inyección fue inferior al 10%.

Influencia de la concentración y el tiempo de exposición

Se generaron atmósferas controladas a tres niveles de concentración diferentes: 0,1; 1 y 2 veces el valor límite (VL), 40% de humedad relativa y 20°C de temperatura. Se tomaron muestras en tres intervalos de tiempo distintos, 0,5; 4 y 8 horas por ser los tiempos de referencia habituales en exposiciones laborales ya que abarcan casi todas las posibles situaciones que se pueden dar, exposiciones de corta duración, media jornada y la equivalente a toda una jornada laboral. Se realizaron experiencias de exposición, con seis

muestreadores en cada caso, siguiendo el esquema de la Tabla 3.1. El valor límite de referencia para estireno cuando se llevó a cabo la experiencia era el establecido por la ACGIH (213 mg/m³) (5).

Tabla 3.1 Esquema del procedimiento seguido para evaluar los efectos concentración-tiempo en la optimización del muestreador.

Concentración (mg/m ³)	Tiempo de muestreo		
	0,5 h	4 h	8 h
0,1 Valor límite	✓		✓
Valor límite		✓	
2 Valor límite	✓		✓

Valor límite, 213 mg/m³ para estireno

Las condiciones de generación de la atmósfera (caudal de aire y flujo másico) se determinaron según la ecuación 3.4. La concentración de estireno se controló durante cada experiencia siguiendo los procedimientos descritos anteriormente. En todos los ensayos se mantuvo la velocidad relativa del aire en la superficie de los muestreadores difusivos entre 0,7 y 1 m/s. El estireno recogido por cada muestreador se desorbió y analizó según las condiciones de análisis que aparecen en el apartado 3.2.2.

Paralelamente a cada una de las experiencias se empleó un muestreador, al que se llamó blanco que, sin ser expuesto, fue sometido a un procedimiento de apertura, desorción y análisis idéntico al de los otros seis muestreadores. El seguimiento de este blanco permitiría descartar la señal analítica asociada al procedimiento y que no tuviese que ver exactamente con la exposición.

Estudio de la estabilidad de las muestras

Esta experiencia tiene como finalidad conocer en que medida afecta al muestreador el almacenamiento posterior al muestreo y previo al análisis.

Se tomaron 2 muestras adicionales en las experiencias 0,1 VL 30 min y 2 VL 8 horas y se almacenaron a temperatura ambiente (20-25°C) durante 15 días. Transcurrido este periodo de tiempo se analizaron y se compararon los resultados obtenidos con los hallados para los 6 muestreadores analizados con anterioridad.

Exposición a concentración cero

El comportamiento del adsorbente ideal supone la retención total del compuesto adsorbido, sin embargo en condiciones reales puede producirse un fenómeno denominado difusión reversa que consiste en la difusión del estireno retenido previamente en el muestreador hacia el ambiente.

Para evaluar dicha posibilidad se realizó una experiencia consistente en la exposición de 6 muestreadores durante 30 min a concentración 0,1 VL. De estos muestreadores, 2 se analizaron de forma inmediata, y los otros 4 se expusieron, en el interior de la cámara de muestreo, a una corriente de aire con concentración de estireno nula durante 5 horas, posteriormente se analizaron todos los muestreadores para comparar los resultados obtenidos para los dos grupos y comprobar así la influencia del fenómeno descrito.

3.3 Resultados y discusión

3.3.1 Eficacia de desorción

Los resultados de los ensayos para determinar la eficacia de desorción para el muestreador 3M-3500 y el tubo de carbón activo para muestreo dinámico se muestran en la Tabla 3.2.

Tabla 3.2 Cálculo de la eficacia de desorción.

3M-3500			Tubos rellenos de carbón activo SKC		
Masa ⁽¹⁾	Disolución ⁽²⁾	Muestreador ⁽²⁾	Masa ⁽¹⁾	Disolución ⁽²⁾	Muestreador ⁽²⁾
1,357	1,360	1,198	4,525	4,525	
	1,354	1,243	4,501	3,835	
	1,342	1,220	4,487	3,874	
		1,189			
		1,242			
		1,216			
Media	1,352	Media 1,218	Media 4,504	Media 3,923	
S.D.	0,01	S.D. 0,02	S.D. 0,02	S.D. 0,07	
R.S.D.	0,68%	R.S.D. 1,82%	R.S.D. 0,43%	R.S.D. 1,73%	
Coeficiente de desorción: 0,90			Coeficiente de desorción: 0,87		

Media Media aritmética

S.D. Desviación estándar

R.S.D. Desviación estándar relativa

¹Masa adicionada a muestreadores y disolución (µg)

²Masa analizada (µg)

Para el muestreador 3M-3500, el coeficiente de desorción medio calculado según el apartado 3.2.3 fue de 0,90. El coeficiente de desorción de los muestreadores dinámicos para estireno fue de 0,87.

3.3.2 Estudio concentración-tiempo

Se realizaron las experiencias descritas en la Tabla 3.3, consistentes en exponer a 6 muestreadores a distintas condiciones de concentración-tiempo, y se analizó la masa recogida por cada uno de los mismos. Los valores de masa de estireno hallada en cada muestreador se presentan en la Tabla 3.3, la masa recogida por el muestreador utilizado como blanco fue siempre nula.

Para cada muestreador empleado en las distintas experiencias concentración-tiempo se calculó el valor de la velocidad de captación, U (ml/min) para lo cual se utilizó la siguiente ecuación, que se obtiene a partir de la ecuación 3.3 teniendo en cuenta el valor de masa analizada en el muestreador blanco y el del coeficiente de desorción:

$$U = \frac{m_d - m_b}{d \times C_a \times t} \times 10^3 \quad \text{Eq. 3.7}$$

donde:

m_d es la masa de analito desorbida, en μg ,

m_b es la masa de analito desorbida de un muestreador empleado como blanco en μg ,

d es el coeficiente de desorción en tanto por uno

C_a es la concentración de contaminante en la atmósfera en mg/m^3 y

t es el tiempo de exposición en min.

Los valores de U para cada muestreador aparecen en la Tabla 3.3. A partir de estos valores se obtuvo un valor de U medio de 28,12 ml/min con una desviación estándar de 1,44 ml/min.

Una vez obtenido el valor medio de U , se recalculó la concentración, C_a , a partir del mismo para cada uno de los 30 muestreadores expuestos en las distintas experiencias concentración-tiempo, empleando para ello la ecuación 3.8,

$$C_a = \frac{m_d - m_b}{d \times U \times t} \times 10^3 \quad \text{Eq 3.8}$$

donde:

m_d es la masa de analito desorbida en μg ,

m_b es la masa de analito desorbida de un muestreador empleado como blanco en μg ,

d es el coeficiente de desorción en tanto por uno,

U es la velocidad de captación o captación media de todos los muestreadores utilizados en ml/min y

t es el tiempo de exposición en min.

Tabla 3.3 Resultados experimentales, masa analizada y U calculada, para las diferentes combinaciones de tiempo de exposición y concentración de estireno.

Experiencia	Concentración verdadera (mg/m^3)	Tiempo de exposición (min)	Masa analizada (μg)	U (ml/min)
0,1 VL 0,5 horas	21,2	32	17,0	27,8
			16,7	27,3
			16,7	27,3
			16,5	27,0
			16,1	26,3
			16,6	27,2
0,1 VL 8 horas	21,1	480	254,3	27,9
			252,5	27,7
			247,9	27,2
			249,8	27,4
			242,5	26,6
			249,8	27,4
VL 4 horas	189,9	240	1087,0	26,5
			1062,4	25,9
			1115,7	27,2
			1099,3	26,8
			1078,8	26,3
			1103,4	26,9
2VL 0,5 horas	363,8	30	293,7	29,9
			285,8	29,1
			292,7	29,8
			288,8	29,4
			286,8	29,2
			290,7	29,6
2VL 8 horas	354,5	480	4517,7	29,5
			4594,3	30,0
			4563,7	29,8
			4670,9	30,5
			4563,7	29,8
			4655,6	30,4

Los valores de concentración obtenidos de esta manera se muestran en la Tabla 3.4.

Tabla 3.4 Resultados de concentración recalculada empleando el valor de U medio.

Experiencia	Concentración verdadera (mg/m ³)	Tiempo de exposición (min)	Concentración recalculada (mg/m ³)
0,1 VL 0,5 horas	21,2	32	21,0 20,6 20,6 20,4 19,8 20,5
0,1 VL 8 horas	21,1	480	20,9 20,8 20,4 20,6 20,0 20,6
VL 4 horas	189,9	240	179,0 174,9 183,7 181,0 177,6 181,7
2 VL 0,5 horas	363,8	30	386,8 376,5 385,5 380,4 377,8 382,9
2 VL 8 horas	354,5	480	371,9 378,2 375,7 384,5 375,7 383,2

A partir de los valores de concentración recalculados y los valores de concentración verdadera se calcularon el sesgo relativo (S) y el coeficiente de variación (CV) de cada experiencia concentración-tiempo mediante el uso de las ecuaciones 3.9 y 3.10:

$$S = \frac{|X - X_r|}{X_r} \times 100 \quad \text{Eq 3.9}$$

donde:

X es el valor medio de los resultados obtenidos para cada concentración y

X_r es el valor verdadero o aceptado de la concentración de la atmósfera.

$$CV = \frac{DS}{C} \times 100 \quad \text{Eq 3.10}$$

donde:

DS es la desviación estándar de los valores de cada experiencia concentración-tiempo

C es la concentración media encontrada en una misma experiencia concentración-tiempo

Los valores de sesgo (S) y coeficiente de variación (CV) para cada experiencia concentración-tiempo se representan en la Tabla 3.5, el valor de sesgo relativo para cada celdilla fue inferior en todas las experiencias al 10% y la desviación típica relativa o coeficiente de variación fue siempre inferior al 7% que son los valores máximos tolerables por el protocolo de validación del INSHT (3).

Tabla 3.5 Resultados de sesgo y coeficiente de variación para cada experiencia concentración-tiempo.

	30 minutos	240 minutos	480 minutos
0,1 Valor límite	S=3,4% CV=1,8%		S=2,7% CV=1,6%
Valor límite		S=5,4% CV=1,7%	
2 Valor límite	S=4,9% CV=1,1%		S=6,7% CV=1,3%

Estabilidad de las muestras

Los resultados del ensayo de almacenamiento se muestran en la Tabla 3.6. Como se puede apreciar en la misma, no hubo apenas diferencias entre uno y otro grupo de muestreadores siendo los resultados semejantes. Se considera por tanto que no existen problemas de almacenamiento ya que los resultados obtenidos por los muestreadores analizados de forma inmediata y los que se

mantuvieron a temperatura ambiente y se analizaron 15 días más tarde difirieron como máximo en un 2,4%, valor muy inferior al 10% máximo aceptado (3).

Tabla 3.6 Resultados de los ensayos de almacenamiento.

Situación estudiada	C de referencia* (mg/m ³)	C de almacenamiento** (mg/m ³)	Error relativo (%)
0,1 VL - 30 min	20,5	20,1	2
2 VL - 480 min	378,4	369,4	2,4

* Media de seis muestreadores

** Media de dos muestreadores

Exposición a concentración cero

Los resultados del ensayo de difusión reversa se muestran en la Tabla 3.7, las diferencias en las concentraciones encontradas por los dos grupos de muestreadores suponen un 0,4%, por lo que el fenómeno se puede considerar despreciable.

Tabla 3.7 Resultados del ensayo de difusión reversa.

Situación estudiada	Concentración (mg/m ³)
0,1 VL - 30 min	27,34 *
0,1 VL - 30 min + 0 VL - 300 min	27,24**
Error relativo (%)	0,4

* Media de 2 muestreadores

** Media de 4 muestreadores

3.3.3 Muestras apareados

El estudio cuyos resultados se acaban de discutir se llevó a cabo en condiciones experimentales controladas. Para verificar su validez en ensayos reales se realizaron una serie de muestreos apareados entre este muestreador y el sistema de muestreo dinámico, que se describió en el apartado 3.2.4. Se realizó una toma de muestras simultánea con ambos sistemas a trabajadores expuestos, obteniéndose los resultados globales que se exponen en la Tabla 3.8.

Tabla 3.8 Concentraciones halladas (mg/m^3) en el muestreo simultáneo con tubos de carbón activo y muestreadores pasivos 3M-3500 para estireno.

	Carbón activo	3M-3500
Número de muestras	21	21
Media	101,3	102,4
Mediana	67,4	70,1
Máximo	459,0	455,3
Mínimo	6,2	7,7
Desviación estándar	106,9	105,9

En la figura 3.6 se representan los valores de concentración hallados por ambos métodos y la recta de regresión que se obtuvo. En la Tabla 3.9 se presentan los resultados de la recta de regresión, se muestran los valores de pendiente y la ordenada en el origen. Los resultados obtenidos presentan un valor de pendiente que incluye a la unidad para unos límites de confianza del 95%. De igual forma, para el 95% de confianza, la ordenada en el origen incluye al 0, el valor del coeficiente de regresión obtenido, $r = 0,998$ es muy próximo a la unidad. Todo ello indica una gran concordancia entre los valores hallados por ambos métodos de muestreo.

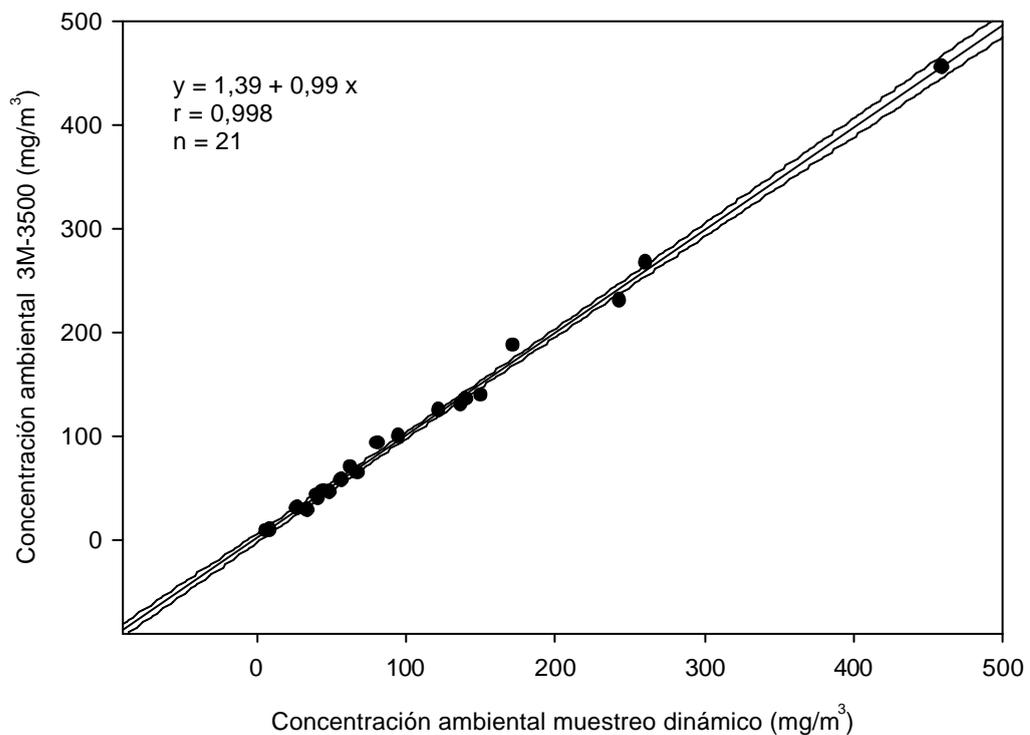


Figura 3.6 Recta de regresión entre las concentraciones ambientales obtenidas mediante muestreo dinámico y el muestreador 3M-3500

Tabla 3.9 Análisis de regresión entre los dos métodos utilizados ($y = a + bx$).

Pareja de muestras	a (límites de confianza 95%)	b (límites de confianza 95%)	r	p
CA vs. 3M-3500	1,4 (-3,1 a 5,9)	0,989 (0,959 a 1,019)	0,998	<0,001

3.4 Resumen de las condiciones de utilización del procedimiento

En la Tabla 3.10 se resumen las características de validación del muestreador y se presentan además los niveles exigidos por el protocolo de validación. Como se puede apreciar los valores obtenidos cumplen sobradamente los requisitos establecidos.

Tabla 3.10 Resultados de validación del muestreador 3M-3500.

	Requerimiento INSHT	Valor obtenido
Coefficiente de desorción	>0,75	0,90
Velocidad de captación por difusión	--	28,12 ml/min
Intervalo de concentración	desde 0,1 a 2 VL	21,1-363,8 mg/m ³
Intervalo de tiempos de muestreo	de 30 a 480 min	30-480 min
Almacenamiento	<10 % pérdidas	2-2,4 %
Difusión reversa	Comprobación	0,4 %

Con los resultados obtenidos en las distintas experiencias se puede afirmar que el muestreador 3M-3500 que contiene una lámina de carbón activo cumple los requerimientos del protocolo del INSHT para validación de muestreadores pasivos. Por lo tanto, el dispositivo ensayado se puede utilizar en trabajos de campo empleando para ello los valores de U y coeficiente de desorción obtenidos.

3.5 Bibliografía

- 1 Periago J.F. Estudio experimental de monitores pasivos en atmósferas controladas de disolventes. *Actas del X Congreso Nacional de Medicina, Higiene y Seguridad del Trabajo. Granada 301-312.* 1984.
- 2 Periago J.F. Validación de muestreadores pasivos para vapores orgánicos. *Actas del XI Congreso nacional de Medicina, Higiene y Seguridad del Trabajo. Madrid 399-411.* 1987.
- 3 I.N.S.H.T. Protocolo de validación de muestreadores pasivos por difusión. *INSHT, Barcelona MTA/PV-II/90.* 1991.
- 4 3M. 3M Organic Vapor Monitor 3500, Analysis Guide, *3M España* 1990.
- 5 A.C.G.I.H. Threshold limit values (TLVs) for chemical substances and physical agents and biological exposure indices (BEIs). *ACGIH Cincinnati, Ohio USA.* 1995.

4

EVALUACIÓN DE ESTIRENO EN AIRE MEDIANTE MUESTREADORES PASIVOS PARA DESORCIÓN TÉRMICA Y CROMATOGRFÍA DE GASES

4 EVALUACIÓN DE ESTIRENO EN AIRE MEDIANTE MUESTREADORES PASIVOS PARA DESORCIÓN TÉRMICA Y CROMATOGRAFÍA DE GASES

4.1 Introducción

La determinación de la concentración de los agentes químicos en las atmósferas de los lugares de trabajo se puede realizar utilizando sistemas de muestreo pasivo por difusión para su posterior análisis mediante desorción térmica. La desorción térmica permite que el contaminante retenido en un adsorbente se libere al elevar la temperatura, a la vez que un gas inerte lo arrastra para su análisis mediante cromatografía gaseosa.

Como se expuso en el capítulo anterior, la velocidad de captación (U) permite calcular la concentración media del contaminante en el lugar de trabajo a partir de la duración de la toma de muestra y de la masa de contaminante adsorbida en el muestreador. Este término debe ser una constante que dependa únicamente de la geometría del muestreador (área transversal y longitud de difusión) y del coeficiente de difusión del contaminante en aire siendo característica para cada compuesto químico y cada modelo de muestreador (1).

En ocasiones las velocidades de muestreo encontradas para muestreadores tipo tubo para desorción térmica disminuyen con el tiempo de exposición (2-4). Este hecho es debido en general a una baja estimación de la cantidad de contaminante retenida (bien porque está retenido débilmente y se desorbe antes de analizarlo o bien por una desorción incompleta) como consecuencia de una inadecuada selección del adsorbente ya que una adsorción eficaz depende de las interacciones que tienen lugar en la interfase contaminante-adsorbente. Es, por tanto, necesario elegir el adsorbente apropiado para cada contaminante en particular.

En el caso de la toma de muestra mediante muestreo por difusión y posterior desorción térmica, debe tenerse en cuenta que la adsorción ha de ser lo suficientemente fuerte para asegurar que la concentración de contaminante en la interfase gas-sólido sea nula, pero no excesivamente fuerte para impedir su desorción en condiciones razonables de temperatura y tiempo (5).

Los adsorbentes para desorción térmica constituyen un amplio grupo de materiales poliméricos sintéticos, porosos, hidrófobos y térmicamente estables que se han empleado habitualmente como fase estacionaria en cromatografía gas-sólido. Las características comunes que deben cumplir todos ellos son: afinidad por un amplio grupo de compuestos, alta capacidad de adsorción a

temperatura ambiente que sea reversible cuando se eleve la temperatura, estabilidad térmica, baja afinidad por el dióxido de carbono y por el vapor de agua, inercia química, tamaño de partícula uniforme y granulado y sin tendencia a la formación de polvo.

Una vez seleccionado el adsorbente adecuado, las Normas UNE EN-838 y UNE-EN 482 (6,7) establecen los requisitos que debe cumplir un muestreador pasivo por difusión y los métodos para evaluar el cumplimiento de dichos requisitos para el muestreo de un contaminante o una familia de contaminantes. En ella se establecen también los valores máximos de incertidumbre global (una combinación de la precisión y el sesgo) aceptables en condiciones de ensayo definidas para que el dispositivo se considere útil para tomar muestras del contaminante estudiado.

En este capítulo se describe el desarrollo de un muestreador pasivo por difusión para la determinación de la exposición personal a estireno. El muestreador está basado en un tubo diseñado para su utilización en un sistema de desorción térmica comercial. Después de seleccionar el adsorbente adecuado el muestreador se ha evaluado en ensayos de laboratorio en un rango amplio de condiciones ambientales representativas de las que se presentan en el lugar de trabajo. También se han realizado ensayos en campo, en condiciones típicas de utilización, con el fin de determinar si hay alguna diferencia sistemática entre los resultados obtenidos con el muestreador y los obtenidos con un método independiente.

4.2 Materiales y métodos

4.2.1 Selección de adsorbentes

La estructura porosa de los adsorbentes juega un papel importante en la interacción superficial que se produce en el proceso de adsorción del contaminante. La interacción de éste último con la superficie del sólido aumenta con la microporosidad del adsorbente (8).

El Tenax TA es un polímero basado en el óxido de poli-2,6-difenilfenileno que se usa normalmente como relleno de columnas y como material adsorbente. El Tenax no adsorbe agua ni dióxido de carbono y presenta afinidad por un importante grupo de compuestos. Presenta baja polaridad, una superficie de adsorción relativamente baja y es estable hasta casi 400°C.

El Chromosorb 106 es un polímero poroso formado por cadenas entrecruzadas de poliestireno, es no polar y al igual que el Tenax no adsorbe ni agua ni dióxido de carbono.

En la Tabla 4.1 se recogen algunas propiedades físicas de estos adsorbentes (8).

Los adsorbentes utilizados han sido Tenax TA y Chromosorb 106 (SKC) ambos con una granulometría de 60x 80 mallas.

Estos adsorbentes se han escogido por tener porosidades muy diferentes como se ve en la Tabla 4.1, donde se aprecia que el Chromosorb 106 tiene un volumen de microporos muy elevado respecto al que presenta el Tenax TA.

Tabla 4.1 Propiedades físicas de los adsorbentes estudiados.

Adsorbente	S (m ² /g)	V _{micro} (ml/g)	T _{max} (°C)
TenaxTA	26	6,7	375
Chromosorb 106	800	197,7	250

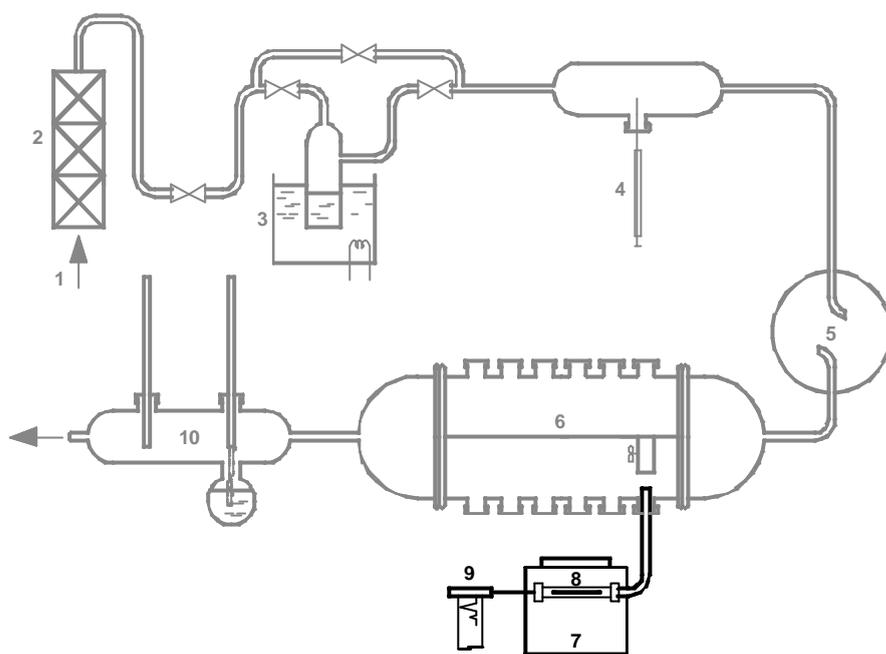
S área superficial específica del adsorbente obtenida de la isoterma de adsorción de N₂ a 77K

V_{micro} volumen de microporos, poros de diámetro inferior a 2 nm

T_{max} temperatura máxima de utilización

Se ha utilizado la cromatografía gas-sólido para determinar los volúmenes específicos de retención para estireno (PS Merck). Las medidas de adsorción se han llevado a cabo utilizando el sistema que se muestra en la figura 4.1.

El adsorbente (0,2 g) se empaquetó en una columna de acero inoxidable (89 mm x 6,4 mm OD) (Perkin-Elmer) que se colocó entre el inyector y el detector de ionización de llama de un cromatógrafo de gases Perkin-Elmer modelo 3920B. En la figura 4.2 se muestra un esquema detallado de los tubos empleados. Cada tubo se suministra con una malla de acero inoxidable fija en su interior sobre la cual se deposita el adsorbente, previamente pesado, a continuación se introduce otra malla de diámetro igual al diámetro interno del tubo y se presiona de modo que el adsorbente quede bien empaquetado. Esta última malla queda fija con ayuda de un muelle, tal como se aprecia en la figura.



1. entrada de aire
2. filtro
3. humidificador
4. inyector automático
5. cámara de mezcla
6. cámara de muestreo
7. cromatógrafo de gases
8. tubo relleno de adsorbente
9. integrador
10. Sistema de medición de humedad

Figura 4.1 Esquema del sistema utilizado para la generación de atmósferas controladas y el cálculo de los volúmenes específicos de retención.

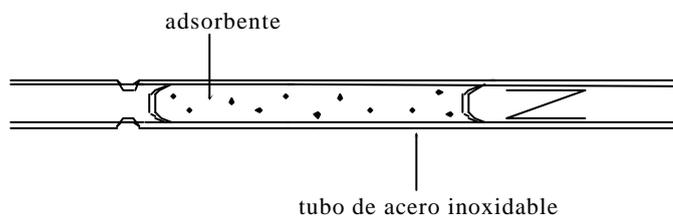


Figura 4.2 Esquema de un tubo relleno de adsorbente.

El estireno en fase vapor se obtuvo mediante el sistema generador de atmósferas dinámico conectado en línea y se inyectó en la columna mediante una válvula manual de 5 ml. Las cantidades de estireno inyectadas fueron del orden de 0,1 µg y el flujo de N₂ (N55) utilizado como gas portador fue de 30 ml/min.

Las medidas del tiempo de retención en el máximo del pico se realizaron en el rango de temperaturas de 373 a 493 K y se repitieron, para cada temperatura estudiada, hasta obtener tiempos de retención reproducibles en inyecciones consecutivas.

Los tiempos de retención obtenidos se corrigieron con el tiempo de retención del aire, especie no adsorbida por ambos sólidos a la temperatura de la columna.

El volumen específico de retención V_s (L/g), que es el volumen de gas portador necesario para que una pequeña cantidad de soluto pase a través de una columna rellena con un gramo de adsorbente, se calculó utilizando la siguiente expresión

$$V_s = (t_R - t_0) \times Q \times \frac{1}{m} \times 10^{-3} \quad \text{Eq. 4.1}$$

donde:

t_R es el tiempo de retención de estireno en min,

t_0 es el tiempo de retención del aire en min,

Q es el flujo de gas que circula por el interior de la columna en ml/min y

m es la masa de adsorbente en el interior del tubo en g.

4.2.2 Sistemas de muestreo empleados

El muestreador utilizado se presenta en la figura 4.3 y está basado en el tubo estándar de acero inoxidable para el sistema de desorción térmica ATD50 de Perkin-Elmer (89 mm x 6,4 mm OD) descrito en la figura 4.2. Presenta un área de difusión de 0,2 cm² y una longitud de difusión de 1,5 cm. Cada tubo se rellena con 0,15 g de Tenax TA. Previamente a ser utilizado y durante el almacenamiento los tubos se protegen mediante tapones de almacenamiento del tipo Swagelok; para su utilización como muestreador pasivo, se reemplaza uno de estos tapones por un cabezal de difusión.

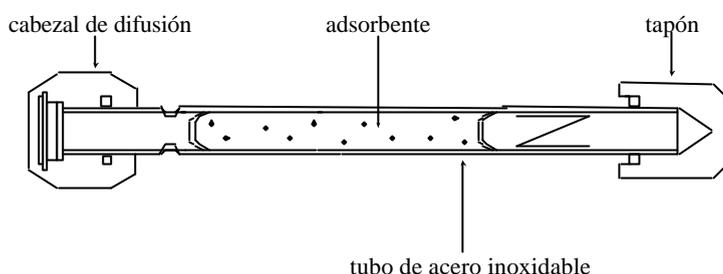


Figura 4.3 Muestreador pasivo ATD-50 Tenax TA.

En la figura 4.4 se puede ver el muestreador pasivo ATD-50 Tenax TA con los cabezales tipo Swagelok para transporte y el cabezal de difusión.



Figura 4.4 Muestreador pasivo ATD50 Tenax TA con cabezales para transporte y cabezal de difusión.

Durante el proceso de evaluación, además del muestreador pasivo, se ha empleado un sistema de muestreo dinámico para captación de estireno consistente en un tubo de vidrio relleno de carbón activo unido a una bomba de aspiración (SKC). Estos tubos, que ya se describieron en el apartado 3.2.1, se encuentran rellenos con carbón activo de 20/40 mallas y se dividen en dos secciones de 400 y 200 mg cada una (SKC). La sección de 200 mg se utiliza para comprobar la posible saturación del muestreador. El caudal de aspiración se fijó para todos los muestreos en 200 ml/min.

4.2.3 Condiciones de desorción y análisis

La desorción se realizó térmicamente, para ello los tapones de los tubos rellenos de adsorbente se reemplazaron por cabezales de desorción, los cuales tienen un diseño que permite, una vez situados en el horno, el paso de una corriente de gas a través del tubo. El tubo con los cabezales se muestra en la figura 4.5.



Figura 4.5 Tubo para sistema de desorción térmica ATD50 con cabezales para desorción.

El estireno presente en los tubos se desorbió empleando el sistema de desorción térmica Automatic Thermal Desorption, ATD-50 (Perkin-Elmer), que consta de:

Soporte giratorio de muestras, que permite el procesado automático de 50 muestras bajo un mismo programa de desorción.

Horno de desorción, en el que se introduce, desde el soporte de muestras, el tubo relleno de adsorbente y se mantiene a la temperatura adecuada para la desorción mientras se hace pasar un gas de purga (N_2 , N55) durante tiempo suficiente para que todo el compuesto retenido sea desorbido.

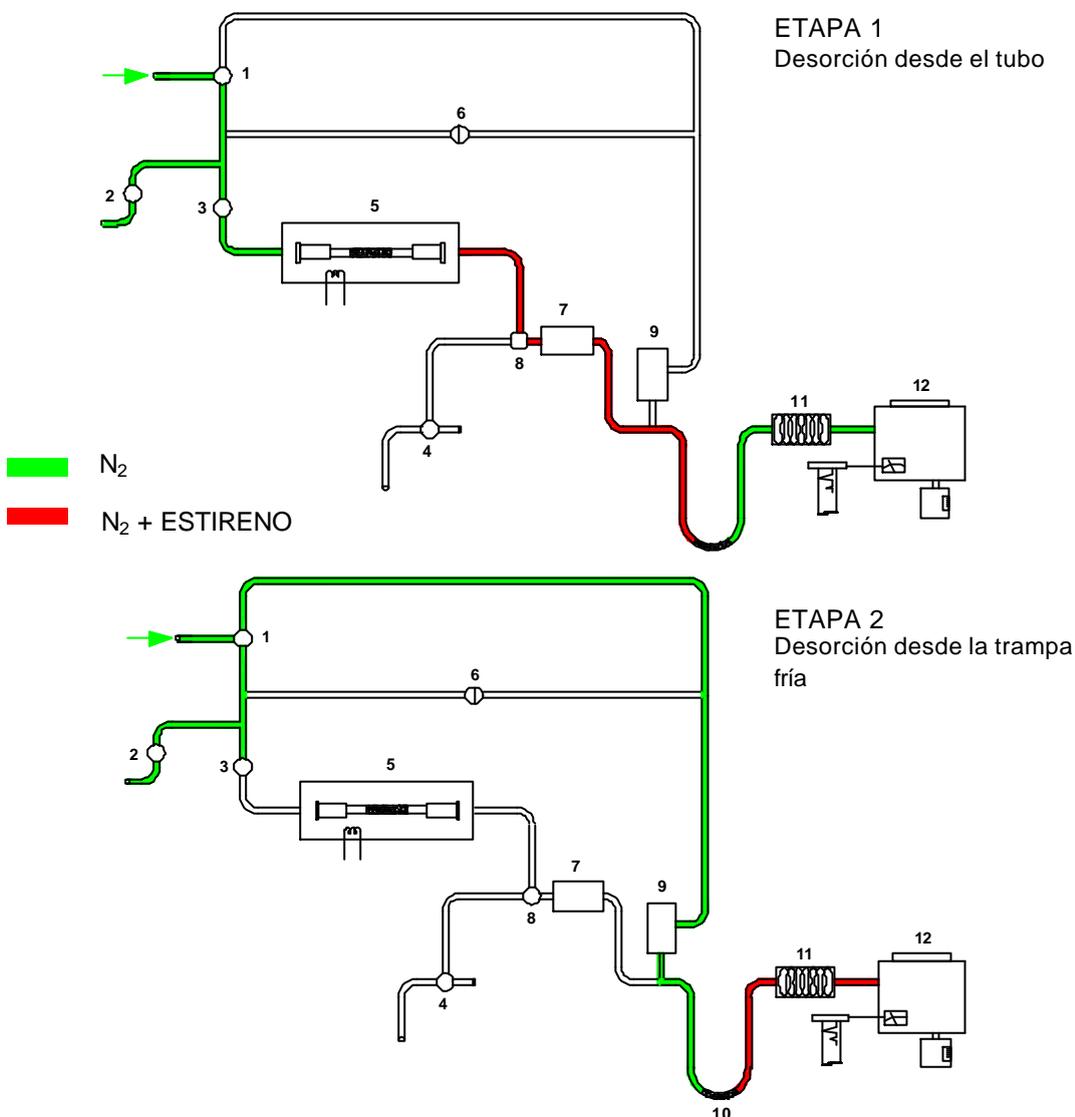
Trampa fría, rellena con 20 mg de Tenax TA, capaz de alcanzar una temperatura mínima de $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ y calentarse posteriormente hasta una temperatura de $300\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Línea de transferencia caliente que conecta la trampa fría con un **Cromatógrafo de gases** GC 8700, (Perkin-Elmer).

Sistema de válvulas que permite o restringe el paso del gas de purga a través de las distintas partes del sistema.

Antes de proceder a la desorción, para cada tubo utilizado se realizó una purga y un test para la detección de fugas. Superado el test, la desorción del compuesto adsorbido se realizaba en dos etapas. En la primera, de 10 minutos de duración, el tubo se calentó a 200°C mientras que, a través del mismo, una corriente de N_2 (N55) a 10 psi (0,7 bar) empleado como gas portador transfería los vapores desorbidos desde el tubo a la trampa fría que se encontraba a -30°C . En la segunda, la trampa se calentó a 300°C súbitamente para desorber los compuestos volátiles adsorbidos en ella, que pasaron a la columna a través de la línea de transferencia caliente. La ventaja de este método es que la inyección de la muestra al cromatógrafo es instantánea, de modo que se obtienen picos estrechos y bien definidos.

En la figura 4.6 se esquematiza el sistema y el modo de funcionamiento del mismo en las dos etapas descritas.



1. Válvula de dos vías para el gas portador
2. Válvula de presurización
3. Válvula de aislamiento
4. Válvula de purga
5. Horno al que se eleva el tubo de muestra desde el soporte giratorio para el test de fugas y la desorción (+ 50 °C / + 300 °C)
6. Transductor diferencial de presión
7. Volumen buffer
8. Válvula calentada (+ 50 °C / + 150 °C)
9. Inyector para calibración (+ 50 °C / + 150 °C)
10. Trampa fría (- 30 °C / + 30 °C) que puede calentarse hasta + 300 °C
11. Línea calentada (+ 50 °C / + 150 °C)
12. Cromatógrafo de gases

Figura 4.6 Esquema del sistema de desorción térmica.

Respecto al análisis cromatográfico, se ha utilizado una columna capilar de FFAP de 25 metros de longitud, 0,2 mm de diámetro interno y 0,3 μm de espesor (Perkin-Elmer), N_2 (N55) como gas portador y se ha optado por un programa isoterma a 120°C, bajo estas condiciones el estireno presente en los tubos eluye a un tiempo de retención de 6,1 min.

Los muestreadores dinámicos empleados para la evaluación de este muestreador se desorbieron y analizaron según las condiciones que se detallaron en el apartado 3.2.2, consistentes en transvasar el adsorbente desde el tubo de vidrio a un recipiente en el que se realizó la desorción con 3 ml de disulfuro de carbono (PA Merck) durante 30 minutos con agitación periódica. Las disoluciones resultantes de la desorción se analizaron utilizando un cromatógrafo de gases HP 5890 (Agilent Technologies), se empleó una columna de Apiezon L (Agilent Technologies), N_2 (N55) como gas portador, un gradiente de temperatura desde 75 a 150°C a razón de 15°C/min y un detector de ionización a la llama (FID).

4.2.4 Preparación de tubos patrón

La preparación de los patrones se llevó a cabo inyectando volúmenes conocidos de disoluciones de diferente concentración de estireno en metanol en el interior de los tubos, abarcando todo el rango de calibración. Antes de comenzar la desorción del estireno, siempre se hizo pasar a través de cada tubo una corriente de N_2 (N55) a 40 ml/min durante 3 minutos, de esta forma se eliminaba el metanol adsorbido evitando por tanto posibles interferencias en la posterior etapa de análisis.

4.2.5 Determinación de la eficacia de desorción

Se define la eficacia de desorción como el cociente entre la masa del analito recuperada de un elemento de muestreo y la masa introducida (6). Para su determinación se recomienda que se realicen experiencias para cuatro niveles diferentes, correspondientes a dosis de exposición entre 0,1 VL (30 min de exposición) y 2 VL (8 horas de exposición) (6). Para ello se debería añadir, utilizando una jeringa calibrada, una masa conocida del analito al adsorbente del muestreador pasivo por difusión, preparando tres tubos para cada nivel.

Este procedimiento útil para muestreadores basados en la desorción con disolvente, no lo es tanto cuando se emplean soportes basados en la desorción térmica, que son reutilizables y para los que no cabe la posibilidad de que parte del analito quede retenido en su interior, ya que esto impediría el empleo del muestreador en sucesivas experiencias.

Por tanto, para este tipo de muestreadores lo aconsejable es buscar las condiciones de desorción óptimas que faciliten la total separación del analito del soporte adsorbente.

Las condiciones descritas en 4.2.3 se han seleccionado para conseguir una desorción del 100%.

4.2.6 Determinación de la velocidad de captación

Para el desarrollo de los diferentes ensayos de validación del muestreador se utilizó el sistema dinámico para la generación de atmósferas que se mostró en la figura 3.2 y que, como se explicó en el apartado 3.2.4, permite obtener atmósferas de concentración conocida de estireno mediante la inyección a velocidad controlada de una masa de estireno sobre una corriente de aire. El sistema dispone de una cámara donde se consigue una mezcla homogénea, de una cámara de muestreo y de dispositivos para el establecimiento y control de la velocidad de aire, la humedad y la concentración de estireno en la atmósfera (9,10).

El control y la verificación de la atmósfera se realizaron según lo descrito en el apartado 3.2.4, la precisión de la concentración de la atmósfera se determinó realizando inyecciones periódicas de alícuotas de aire procedente de la cámara de atmósferas controladas al cromatógrafo de gases conectado en línea. El coeficiente de variación de la concentración de la atmósfera durante todos los ensayos fue inferior al 4%.

La concentración se verificó mediante un método independiente basado en el empleo del sistema de muestreo dinámico descrito en 4.2.2. En cada experiencia se tomaron seis tubos de carbón activo. En todos los casos la diferencia entre la concentración medida mediante el método independiente -media de los 6 resultados obtenidos- y la concentración teórica calculada a partir del flujo de aire y la velocidad de la jeringa de inyección fue inferior al 10%.

Cálculo de la velocidad de captación nominal

En una primera etapa se determinó la velocidad de captación nominal, para ello se expusieron 6 muestreadores durante 8 horas a una atmósfera cuya concentración de estireno en aire era de 189,9 mg/m³, muy próxima al valor límite (VL) (11), a humedad relativa del 40% y a temperatura de 20°C.

Efecto de la concentración y del tiempo de exposición en el funcionamiento del muestreador

Se estudió el posible efecto de la concentración y el tiempo en la velocidad de captación, sobre grupos de seis muestreadores, para lo cual se realizaron los

ensayos que aparecen relacionados en la Tabla 4.2 que fueron las cuatro combinaciones entre las concentraciones 0,1 VL y 2 VL y los tiempos de exposición de 0,5 h y 8 h.

Tabla 4.2 Diseño de las experiencias para evaluar el efecto concentración-tiempo.

Concentración (mg/m ³)	Tiempo de muestreo	
	0,5 h	8 h
0,1 Valor límite	✓	✓
2 Valor límite	✓	✓

Valor límite, 213 mg/m³ para estireno

Se generaron atmósferas estándar de vapores de estireno en aire en condiciones, lo más próximas posible a las mencionadas en la Tabla 4.2. Las condiciones de generación de la atmósfera, caudal de aire y flujo másico, se determinaron teniendo en cuenta el tiempo que debía durar la experiencia y las ecuaciones 3.2 y 3.3. La concentración de estireno se controló durante cada experiencia siguiendo las recomendaciones apuntadas anteriormente. En todos los ensayos que aparecen en la Tabla 4.2 la temperatura se mantuvo entre 20-25°C, la humedad relativa entre 40-50% y la velocidad relativa del aire en la superficie de los muestreadores entre 0,7 y 1 m/s.

El estireno recogido por cada muestreador se desorbió y analizó en las condiciones que aparecen en el apartado 4.2.3.

Estudio del efecto de la humedad y el almacenamiento sobre el funcionamiento del muestreador

Se tomaron 2 grupos de 6 muestreadores y se expusieron a concentración próxima a 0,1 VL durante 0,5 horas en dos niveles distintos de humedad (40 y 92%). Esto mismo se repitió para concentración aproximada de 2VL y 8 horas de exposición. En todos los ensayos la temperatura se mantuvo en 20°C.

Se tomaron 2 muestras adicionales en cada una de las experiencias 0,1 VL, 0,5 horas, 40% Hr y 2 VL, 8 horas, 40% Hr y se almacenaron a temperatura ambiente (20-25°C) durante 15 días, al cabo de los cuales se procedió al análisis y se compararon los resultados obtenidos con los hallados para los 6 muestreadores analizados con anterioridad, con la finalidad de conocer la posible influencia del almacenamiento posterior al muestreo y previo al análisis.

Exposición a concentración cero

Mediante esta experiencia se cuantifica como afecta al muestreador el fenómeno de la difusión reversa que consiste en la difusión del estireno retenido previamente en el muestreador hacia el ambiente.

La experiencia consistió en la exposición de 6 muestreadores durante 0,5 horas a concentración 0,1 VL. De estos muestreadores, 2 se analizaron de forma inmediata, y los otros 4 se introdujeron en la cámara de muestreo a una corriente de aire con concentración de estireno nula durante 5 horas. Posteriormente se procedió al análisis de la totalidad de los muestreadores para comparar los resultados obtenidos en ambos grupos.

4.3 Resultados y discusión

4.3.1 Selección de adsorbentes

Los valores obtenidos de tiempo de retención a partir de los cromatogramas para el estireno en los dos adsorbentes a las diferentes temperaturas se han utilizado para el cálculo de los volúmenes de retención específicos.

Hay que señalar que en las condiciones estudiadas los picos cromatográficos obtenidos son simétricos y se ha comprobado que los tiempos de retención son independientes de la cantidad de estireno inyectada. Por lo tanto, puede suponerse que la adsorción tiene lugar a cubrimientos superficiales muy bajos y que las medidas se han llevado a cabo en la región lineal de la isoterma (12).

En estas condiciones el coeficiente de partición del soluto entre la fase móvil y la estacionaria es una constante independiente de la concentración del soluto, y se relaciona directamente con el volumen específico de retención obteniéndose una relación lineal entre el logaritmo del volumen de retención específico y la inversa de la temperatura (13).

Las representaciones de estas gráficas para la adsorción de estireno en Tenax TA y Chromosorb 106 pueden verse en la figura 4.7. En ambos casos se ha obtenido una relación lineal en el rango de temperaturas estudiado. En la Tabla 4.3 se recogen los valores de pendiente y ordenada en el origen obtenidos en cada caso.

A partir de estas ecuaciones puede obtenerse, mediante extrapolación, el volumen específico de retención a 293K. Los valores obtenidos son 189 y 4621 L/g para Tenax TA y Chromosorb 106, respectivamente. Estos valores, pueden

utilizarse como una medida de la intensidad de la adsorción de estireno por el adsorbente a la temperatura a la que los muestreadores pasivos por difusión se utilizarán en la práctica.

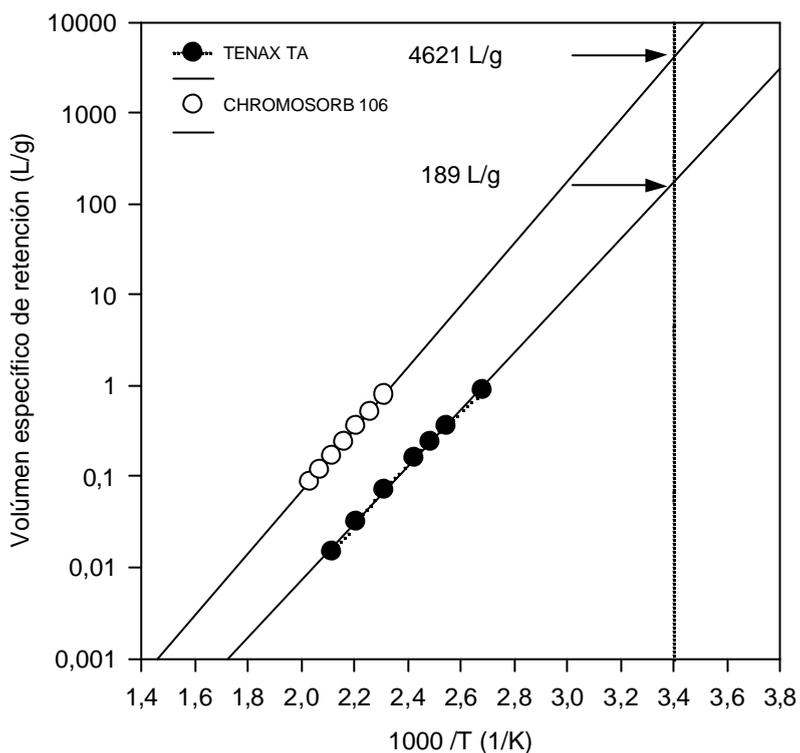


Figura 4.7 Representación del logaritmo del volumen específico de retención frente a la inversa de la temperatura para estireno en Chromosorb 106 y Tenax TA.

Tabla 4.3 Parámetros de las rectas de regresión $\log V_s = a + b (1/T)$.

Adsorbente	a	b	r
CHROMOSORB 106	-7,99	3414,83	0,9999
TENAX TA	-8,38	3122,48	0,9987

Según Brown y Walkin (14), un adsorbente con un volumen de retención específico a 293 K superior a 100 L/g, para un determinado compuesto químico, se puede considerar adecuado para la toma de muestras por difusión del mismo. En ambos casos el valor de V_s obtenido es superior a 100 L/g, lo que indicaría que los dos adsorbentes pueden ser adecuados para estireno. El valor obtenido para Chromosorb 106 es muy superior al obtenido para Tenax TA, indicando que la interacción del estireno con la superficie del adsorbente es menor en este último caso.

Utilizando las rectas de regresión obtenidas se calculó el valor del volumen específico de retención a la temperatura máxima de trabajo de cada adsorbente. A partir de dicho volumen se calculó el tiempo necesario para la desorción del estireno teniendo en cuenta que ésta se realiza empleando un caudal de gas portador de 30 ml/min. Estos datos permiten comparar el comportamiento de los dos adsorbentes y se recogen en la Tabla 4.4, junto con los valores de volumen de retención a 20°C.

Tabla 4.4 Volumen de retención y tiempo de desorción a distintas temperaturas.

Adsorbente	20°C		Tmax*	
	V_s (L/g)	t_d (s/g)	V_s (L/g)	t_d (s/g)
Tenax TA	189	$3,78 \times 10^5$	0,0027	0,5
Chromosorb 106	4621	$9,24 \times 10^6$	0,0346	69

TmaxTenax = 375°C; TmaxChromosorb=250°C

Los resultados obtenidos indican que a la temperatura máxima de utilización de los adsorbentes, el tiempo de desorción es inferior cuando se utiliza Tenax TA. Este hecho hace más conveniente el uso de Tenax TA para la adsorción y posterior desorción de estireno. Además, tanto el Tenax TA como el Chromosorb 106 tienen muy baja capacidad para la adsorción de vapor de agua, y este aspecto es importante cuando se ha de muestrear en zonas con una humedad relativa elevada como puede suceder en condiciones reales de trabajo donde es fácil encontrar valores de humedad ambiental superiores al 50%.

4.3.2 Velocidad de captación

Cálculo de la velocidad de captación por difusión nominal

Los valores de masa de estireno hallados en cada muestreador se presentan en la Tabla 4.5.

Para cada muestreador de los seis utilizados en esta experiencia se calculó el valor de la velocidad de captación, U (ml/min) para lo cual se utilizó la siguiente ecuación derivada de la ley de Fick:

$$U = \frac{m}{d \times C \times t} \times 10^3 \quad \text{Eq. 4.2}$$

donde:

- m es la masa de analito desorbida en μg ,
- d es el coeficiente de desorción,
- C es la concentración de contaminante en la atmósfera en mg/m^3 y,
- t es el tiempo de exposición en minutos.

Los valores de U para cada muestreador se han recogido en la Tabla 4.5.

Tabla 4.5 Cálculo de U nominal, resultados experimentales de masa analizada y velocidad de captación (U).

Experiencia	Concentración verdadera (mg/m^3)	Tiempo de exposición (min)	Masa analizada (μg)	U (ml/min)
VL 8 horas	189,9*	480*	48,8	0,54
			48,3	0,53
			48,9	0,54
			49,4	0,54
			48,5	0,53
			49,0	0,54

* Condiciones experimentales para calcular la velocidad de muestreo nominal

El valor de U nominal, calculado como el valor medio del obtenido para cada uno de los 6 muestreadores, fue de 0,54 ml/min siendo la desviación estándar inferior a 0,01 ml/min.

Efecto de la concentración y del tiempo de exposición en el funcionamiento del muestreador

En la Tabla 4.6 se muestran los valores de concentración y tiempo de exposición empleados en las distintas experiencias llevadas a cabo para estudiar el efecto de la concentración y el tiempo junto con los valores de masa analizada.

Una vez obtenido el valor nominal de U procedente de la experiencia de exposición a VL 8 horas, se calculó la concentración (C) a partir del mismo para

cada uno de los 24 muestreadores empleados en las cuatro experiencias concentración-tiempo que aparecen en la Tabla 4.6. Para el cálculo de la concentración, C (mg/m^3) se empleó la ecuación:

$$C = \frac{m}{d \times U \times t} \times 10^3 \quad \text{Eq. 4.3}$$

donde:

m es la masa de analito desorbida en μg ,

d es el coeficiente de desorción,

U es la velocidad de captación por difusión nominal en ml/min y,

t es el tiempo de exposición, en minutos.

Tabla 4.6 Resultados experimentales, masa analizada y concentración calculada para las cuatro combinaciones concentración-tiempo.

Experiencia	Concentración verdadera (mg/m^3)	Tiempo de exposición (min)	Masa analizada (μg)	Concentración calculada (mg/m^3)
0,1 VL 0,5 horas	21,2	32	0,367	21,2
			0,382	22,1
			0,363	21,0
			0,353	20,4
			0,368	21,3
			0,367	21,2
0,1 VL 8 horas	21,1	480	5,373	20,7
			5,379	20,7
			5,280	20,4
			5,565	21,4
			5,846	22,5
			5,991	23,1
2 VL 0,5 horas	363,8	30	5,968	368,4
			6,117	377,6
			5,962	368,0
			5,851	361,2
			6,038	372,7
			5,779	356,7
2 VL 8 horas	354,5	480	92,068	355,2
			95,178	367,2
			89,372	344,8
			92,197	355,7
			88,801	342,6
			91,757	354,0

En la Tabla 4.7 se muestra el análisis de los datos experimentales. Así en la Tabla 4.7a se muestra el resultado de dividir la concentración obtenida en cada una de las réplicas que aparecen en la Tabla 4.6 por el valor verdadero de concentración de cada experiencia. Sobre estos datos se realizó un análisis de varianza. En la Tabla 4.7b se muestran los resultados de este análisis estadístico del cual se deduce que no existen diferencias significativas para cada uno de los factores principales, concentración y tiempo, ni para la interacción de ambos.

Tabla 4.7 Análisis de los datos experimentales.

4.7a. Ensayos realizados					
Concentración (mg/m ³)	Concentración medida/concentración real				
	30 min		480 min		
21,2	1,00		0,98		
	1,04		0,98		
	0,99		0,96		
	0,96		1,01		
	1,01		1,06		
	1,00		1,09		
363,8	1,01		1,00		
	1,04		1,04		
	1,01		0,97		
	0,99		1,00		
	1,02		0,97		
	0,98		1,00		
4.7b. Análisis de varianza					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F-ratio	Nivel de significación
Entre concentraciones	1,04 x 10 ⁻⁴	1	1,04 x 10 ⁻⁴	0,094	0,766 NS
Entre tiempos de muestreo	4,16 x 10 ⁻⁶	1	4,16 x 10 ⁻⁶	0,004	0,952 NS
Interacción c x t	9,38 x 10 ⁻⁴	1	9,38 x 10 ⁻⁴	0,847	0,378 NS
Error	0,0222	20	0,011		
Total	0,0232	23			

NS = no significativo al 95% de confianza

Se considera el sesgo absoluto como la desviación de la unidad de la media de los 24 valores representados en la Tabla 4.7a expresada en tanto por ciento. La incertidumbre global del método, calculada a partir del sesgo absoluto más dos veces la desviación estándar fue del 6,8%.

Efecto de la humedad y el almacenamiento sobre el funcionamiento del muestreador

En la Tabla 4.8 se muestran los valores de concentración, tiempo de exposición y humedad relativa empleados en las distintas experiencias junto con los valores de masa analizada y concentración obtenida empleando el valor de *U nominal*.

Tabla 4.8 Resultados experimentales, masa analizada y concentración calculada para las cuatro combinaciones concentración-tiempo-humedad relativa.

Experiencia	Concentración verdadera (mg/m ³)	Tiempo de exposición (min)	Masa analizada (µg)	Concentración calculada (mg/m ³)
0,1 VL 0,5 horas Hr: 40%	21,2	32	0,367	21,2
			0,382	22,1
			0,363	21,0
			0,353	20,4
			0,368	21,3
			0,367	21,2
0,1 VL 0,5 horas Hr: 92%	21,2	32	0,333	19,3
			0,370	21,4
			0,371	21,4
			0,374	21,6
			0,363	21,0
			0,355	20,6
2 VL 8 horas Hr: 40%	354,5	480	92,068	355,2
			95,178	367,2
			89,372	344,8
			92,197	355,7
			88,801	342,6
			91,757	354,0
2 VL 8 horas Hr: 92%	354,5	480	92,805	358,0
			94,643	365,1
			90,968	351,0
			90,049	347,4
			92,805	358,0
			87,292	336,8

La concentración calculada para cada uno de los 6 muestreadores replicados se dividió por el valor verdadero de concentración de cada experiencia. En la Tabla 4.9a se muestran los valores que se obtienen de dividir la concentración para cada uno de los seis muestreadores entre la concentración real. El análisis de varianza realizado, cuyos resultados se muestran en la Tabla 4.9b, muestra que no existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos en las condiciones de concentración y humedad ensayadas ni por la interacción de ambas.

Tabla 4.9 Análisis del efecto de la humedad.

4.9a Ensayos realizados					
Concentración / tiempo (mg/m ³)/(min)	Concentración medida/concentración real				
	HR=40%		HR=92%		
21,2/30	1,00			0,91	
	1,04			1,02	
	0,99			1,01	
	0,96			0,99	
	1,01			1,01	
	1,00			0,97	
363,8/480	1,00			1,01	
	1,04			0,98	
	0,97			1,03	
	1,00			1,01	
	0,97			0,99	
	1,00			0,95	
4.9b Análisis de varianza					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F-ratio	Nivel de significación
Entre concentraciones	6,67 x 10 ⁻⁵	1	6,67 x 10 ⁻⁵	0,070	0,797 NS
Entre humedades	4,16 x 10 ⁻⁴	1	4,16 x 10 ⁻⁴	0,438	0,523 NS
Interacción c x HR	2,67 x 10 ⁻⁴	1	2,67 x 10 ⁻⁴	0,280	0,608 NS
Error	0,0190	20	9,52 x 10 ⁻⁴		
Total	0,0198	23			

NS = no significativo al 95% de confianza

Respecto a la estabilidad de las muestras, los resultados del ensayo de almacenamiento se muestran en la Tabla 4.10, los resultados obtenidos por los muestreadores analizados de forma inmediata y los que se mantuvieron a temperatura ambiente y se analizaron 15 días más tarde difirieron como máximo en un 1,3% lo cual dista mucho del 10% máximo aceptado (6).

Tabla 4.10 Resultados de los ensayos de almacenamiento.

Situación estudiada	C de referencia* (mg/m ³)	C de almacenamiento** (mg/m ³)	Error relativo (%)
0,1 VL - 30 min	20,5	20,3	1
2 VL - 480 min	378,4	373,3	1,3

* Media de seis muestreadores

**Media de dos muestreadores

Exposición a concentración cero

Los resultados del ensayo de difusión reversa se muestran en la Tabla 4.11, las diferencias en las concentraciones encontradas por los dos grupos de muestreadores suponen un 0,8%, por lo que el fenómeno se puede considerar despreciable.

Tabla 4.11 Resultados del ensayo de difusión reversa.

Situación estudiada	Concentración (mg/m ³)
0,1 VL - 30 min	27,34
0,1 VL - 30 min + 0 VL - 300 min	27,12
Error relativo (%)	0,8

* Media de 2 muestreadores

** Media de 4 muestreadores

4.3.4 Muestras apareados

Aunque la velocidad de captación por difusión haya sido determinada, y cualquier efecto de los factores ambientales comprobado en los ensayos en laboratorio, puede que existan en el lugar de trabajo algunos factores, tales como fluctuaciones rápidas de la concentración o presencia de interferencias imprevistas, que influyan en el funcionamiento del muestreador pasivo por difusión. Para comprobar esto, se realizaron ensayos en condiciones típicas de utilización prevista del muestreador pasivo por difusión, a fin de determinar cualquier diferencia sistemática entre los resultados del muestreador y los de un método independiente, que en este caso se basó en la aspiración con bomba de un volumen medido de aire y adsorción del estireno presente en tubos de vidrio rellenos con carbón activo. Se realizó el muestreo simultáneo con ambos sistemas a trabajadores laboralmente expuestos a estireno, obteniéndose los resultados globales que se exponen en la Tabla 4.12.

Tabla 4.12 Concentraciones halladas (mg/m³) en el muestreo simultáneo con tubos de carbón activo y muestreadores pasivos ATD-50 Tenax TA para estireno.

	Carbón activo	ATD-50 Tenax TA
Número de muestras	23	23
Media	113,2	110,5
Mediana	80,9	81,9
Máximo	459,0	447,8
Mínimo	6,2	8,4
Desviación estándar	102,4	102,2

En la figura 4.8 se representan los valores de concentración hallados por ambos métodos y la recta de regresión que se obtuvo. En la Tabla 4.13 se presentan los resultados del análisis de regresión lineal, se muestran los valores de pendiente y la ordenada en el origen. Los resultados obtenidos presentan un valor de pendiente que incluye a la unidad para unos límites de confianza del 95%. De igual forma, para el 95% de confianza, la ordenada en el origen incluye al 0, el valor del coeficiente de regresión obtenido, $r=0,995$ es muy próximo a la unidad. Todo ello indica una gran concordancia entre los valores hallados por ambos métodos de muestreo.

Tabla 4.13 Análisis de regresión entre los dos métodos utilizados ($y= a +bx$).

Pareja de muestras	a (límites de confianza 95%)	b (límites de confianza 95%)	r	p
CA vs. ATD-50	0,52 (-5,70 a 6,72)	0,989 (0,952 a 1,036)	0,995	<0,001

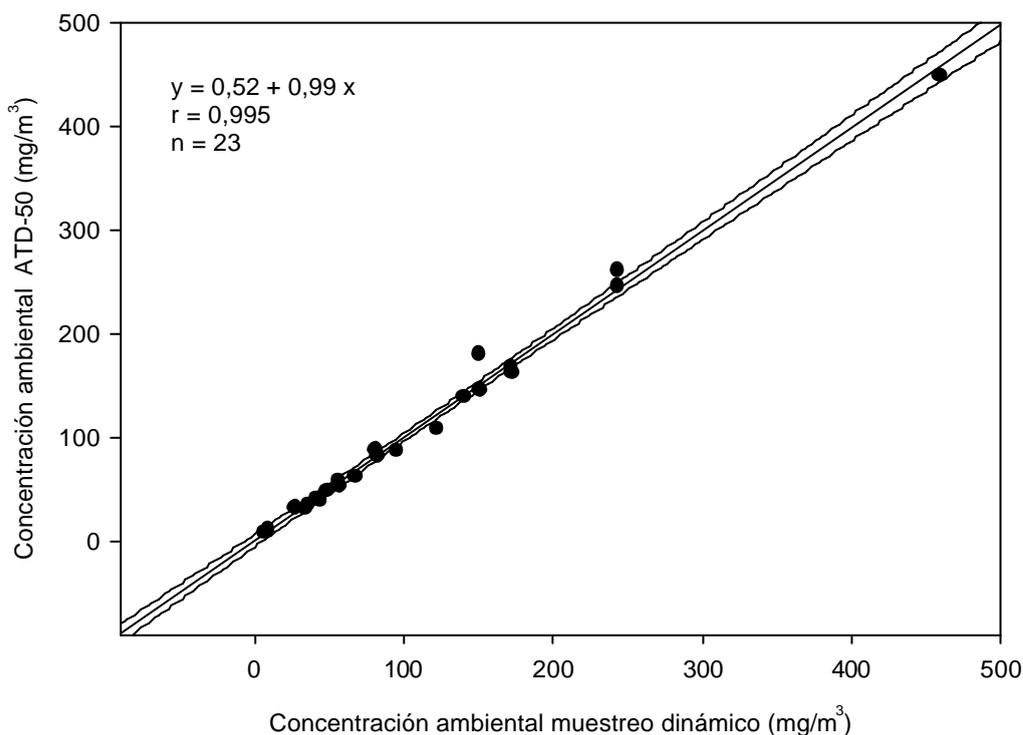


Figura 4.8 Recta de regresión entre las concentraciones ambientales obtenidas mediante muestreo dinámico y el muestreador ATD-50 relleno de Tenax TA

4.4 Resumen de las condiciones de utilización del procedimiento

En la Tabla 4.14 se resumen las características del muestreador y se presentan además los niveles exigidos por el protocolo de validación. Como se puede apreciar los valores obtenidos cumplen sobradamente los requisitos establecidos.

Tabla 4.14 Resultados de validación del muestreador ATD-50 Tenax TA

	Requerimientos EN838 y EN 482	Valor obtenido
Eficacia de desorción	>0,95	>0,99
Velocidad de captación	--	0,54 ml/min
Intervalo de concentración	desde 0,1 a 2 VL	21,1-363,8 mg/m ³
Intervalo de tiempos de muestreo	de 30 a 480 min	30-480 min
Humedad		40 al 92 % Hr
Almacenamiento	pérdidas <10 %	1-1,3 %
Incertidumbre global	<30%	6,6%

Con los resultados obtenidos en las distintas experiencias se puede afirmar que el muestreador ATD-50 empaquetado con Tenax TA cumple sobradamente los requerimientos de las Normas UNE-EN 838 de validación de muestreadores pasivos y UNE-EN 482 sobre requisitos generales relativos al funcionamiento de los procedimientos para la medición de agentes químicos. Por lo tanto, el dispositivo ensayado se puede utilizar en trabajos de campo empleando para ello el valor de U , de incertidumbre global y de coeficiente de desorción obtenidos.

4.5 Bibliografía

- 1 Moore G. Diffusive sampling- a review of theoretical aspects and state of the art. *En Berlin A., Brown RH., Saunders K.J., (ed.) Diffusive sampling .An alternative approach to workplace air monitoring. Royal Society of Chemistry, London 1-13. 1987.*
- 2 Van Den Hoed H., Halmans M.T.H. Sampling and thermal desorption efficiency of tube-type diffusive samplers. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 48: 364. 1987.*
- 3 Rosmanith P. Determination of some uptake rates – Perkin-Elmer ATD 50 diffusive sampling. *En Berlin A., Brown RH., Saunders K.J., (ed.) Diffusive sampling .An*

- alternative approach to workplace air monitoring. Royal Society of Chemistry, London 161-162. 1987.*
- 4 Underhill D.W. Efficiency of passive sampling by adsorbents. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 45: 306. 1984.
 - 5 Glover J.H. Thermal desorption in industrial hygiene and environmental analysis. *Spantech, Surrey. 1991.*
 - 6 Norma UNE-EN 838: Atmósferas en el lugar de trabajo. Muestreadores pasivos por difusión para la determinación de gases y vapores. Requisitos y métodos de ensayo. 1995.
 - 7 Norma UNE-EN 482: Atmósferas en el lugar de trabajo. Requisitos generales relativos al funcionamiento de los procedimientos para la medición de agentes químicos. 1995.
 - 8 Prado C., Periago J.F., Sepúlveda-Escribano A. Sorbent evaluation for diffusive monitoring of environmental contaminants. *J. Chromatogr. A* 719: 87-93. 1996.
 - 9 Periago J.F. Estudio experimental de monitores pasivos en atmósferas controladas de disolventes. *Actas del X Congreso Nacional de Medicina, Higiene y Seguridad del Trabajo, pags. 301-312. 1984.*
 - 10 Periago J.F. Validación de muestreadores pasivos para vapores orgánicos. *Actas del XI Congreso Nacional de Medicina, Higiene y Seguridad del Trabajo, pags. 399-411. 1987.*
 - 11 A.C.G.I.H. Threshold limit values (TLVs) for chemical substances and physical agents and biological exposure indices (BEIs). *ACGIH. Cincinnati, Ohio, USA. 1996.*
 - 12 Kiselev A.V., Yashin Y.I. Gas-Adsorption Chromatography, *Plenum Press, Nueva York, USA. 1969.*
 - 13 Habgood HW. *En E.A. Flood (ed.) The Solid-Gas Interface. Marcel Dekker, Nueva York, USA. 1967.*
 - 14 Brown R.H., Walkin K.T. The performance of a tube-type diffusive sampler containing strong adsorbents for sampling airborne contaminants. *American Industrial Hygiene Conference, Houston, USA. 1980.*

5

DETERMINACIÓN DE ESTIRENO EN AIRE EXHALADO MEDIANTE CAPTACIÓN EN TUBO ADSORBENTE, DESORCIÓN TÉRMICA Y CROMATOGRAFÍA DE GASES

5 DETERMINACIÓN DE ESTIRENO EN AIRE EXHALADO MEDIANTE CAPTACIÓN EN TUBO ADSORBENTE, DESORCIÓN TÉRMICA Y CROMATOGRAFÍA DE GASES

5.1 Introducción

Actualmente, el control biológico de exposición a estireno está basado en la medida de la concentración de sus dos principales metabolitos, ácido mandélico (MA) y ácido fenilglicólico (PGA) en orina (1,2). Como ya se comentó, el muestreo de estos especímenes presenta una gran variabilidad interindividual en los resultados a causa de diversas interferencias sobre la excreción de MA y PGA como puede ser la presencia de otros disolventes, el consumo de drogas o alcohol, la diferencia entre los metabolismos individuales, etc. (3-5).

Como es sabido, el estireno se elimina parcialmente por vía respiratoria sin haber sufrido biotransformación (6,7). Por ello puede resultar interesante la medida del compuesto como tal en aire exhalado para llevar a cabo un control biológico de exposición que complemente la valoración ambiental.

La determinación en aire exhalado constituye un método no invasivo y bien aceptado por la población debido a la sencillez de la toma de muestra. Este indicador biológico podría no estar sometido a las interferencias que afectan a la excreción de MA y PGA, ya que no es de esperar la presencia de estireno procedente de fuentes distintas a la exposición laboral.

Se debe distinguir entre "aire exhalado mezclado", que se obtiene durante una respiración normal, siendo por tanto una mezcla de aire alveolar y aire procedente del volumen muerto del sistema respiratorio, y "aire exhalado final", que se obtiene al final de una exhalación y refleja principalmente la fracción alveolar. La concentración en aire exhalado final se puede relacionar con el nivel del compuesto en sangre, pero cuando se quiere analizar esta fracción es preciso utilizar y validar dispositivos de muestreo que la seleccionen (8).

La metodología utilizada en la captación de aire exhalado es muy variada y no está normalizada, de ahí que en muchas ocasiones, no se puedan comparar los resultados obtenidos en los distintos trabajos experimentales. Los sistemas para el muestreo de este espécimen biológico han evolucionado desde simples

bolsas y tubos hasta dispositivos de una mayor complejidad. Los sistemas desarrollados en los últimos tiempos, tienen como finalidad la recogida de muestras de aire exhalado final con la intención de analizar el compuesto en la fracción alveolar, la cual se relaciona más estrechamente con la concentración del disolvente en sangre (9,10).

En 1992, Periago y cols. (11) realizaron una revisión de los sistemas de captación de aire exhalado utilizados por distintos autores. Tras este trabajo de revisión, tomando como punto de partida los captadores existentes, desarrollaron un nuevo prototipo basado en la captación de alícuotas de aire exhalado final, concentrando los compuestos volátiles presentes en las mismas en un adsorbente para su posterior desorción y análisis cromatográfico. El captador desarrollado se validó para la determinación de tolueno y n-hexano en aire exhalado de acuerdo con el protocolo para la determinación de vapores orgánicos en aire exhalado del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (12), que se basa en este prototipo. Este sistema se ha utilizado para el control biológico de la exposición de sujetos laboralmente expuestos a diversos compuestos (10,11,13-15).

La recogida en un adsorbente de los compuestos volátiles presentes en aire exhalado ofrece una doble ventaja, por un lado la concentración de los mismos durante la captación y por otro, la seguridad de su transporte y almacenamiento. Las muestras consecutivas de aire exhalado recogidas durante un periodo de tiempo discreto, son suficientemente repetitivas para que el valor medio de las mismas sea representativo de la concentración del compuesto en aire alveolar durante ese periodo (14). Por último, la utilización de tubos de captación, rellenos de adsorbentes adecuados para la desorción térmica mejora la sensibilidad ya que se analiza la totalidad del analito recogido frente a la desorción con disolvente, donde se analiza sólo una alícuota de la disolución obtenida tras la desorción.

En este capítulo se describen las experiencias realizadas para desarrollar y validar un método de captación en tubo adsorbente, desorción térmica y análisis por cromatografía de gases de los vapores de estireno en aire exhalado de acuerdo con el protocolo del INSHT anteriormente citado (12) usando para ello el procedimiento de captación mencionado.

5.2 Materiales y métodos

5.2.1 Toma de muestras de aire exhalado

El prototipo diseñado para la captación de aire exhalado está constituido por un tubo de Haldane-Priestley, a través del cual se realizará la exhalación, modificado para poder concentrar alícuotas de aire exhalado, procedente de una o varias exhalaciones (11).

El sistema de captación de aire exhalado está basado en la posibilidad de invertir el giro del motor que acciona una jeringa, con lo que ésta puede realizar alternativamente movimientos de aspiración de aire exhalado recogido en un tubo de aluminio o bien de impulsión hacia un tubo adsorbente, mediante el cambio automático de la posición de una válvula de tres vías.

En la figura 5.1 puede verse un esquema del sistema que consta de las siguientes partes:

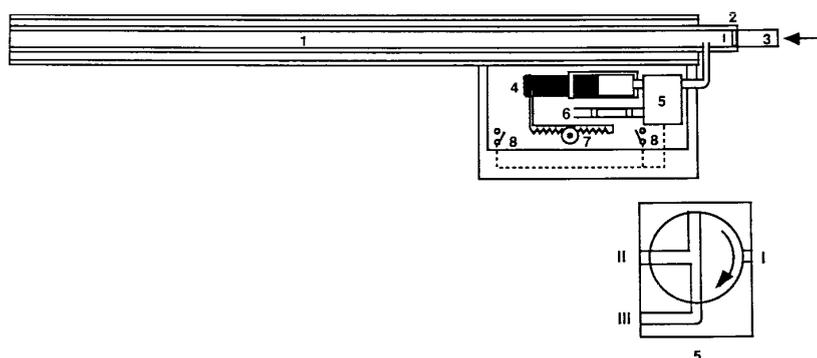


Fig. 5.1 Esquema del sistema de captación de aire exhalado. (1) Tubo de aluminio calorifugado; (2) Válvula antirretroceso; (3) Tubo de cartón desechable; (4) Jeringa; (5) Válvula de tres vías; (6) Tubo adsorbente; (7) Motor; (8) Interruptores finales de carrera.

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

-Válvula de tres vías. Esta válvula está conectada a:

- I. Extremo del tubo de Haldane-Priestley donde está la boquilla de entrada, aproximadamente a 5 cm del lugar de inserción de la misma.

- II. Jeringa de gases de 50 ml instalada en un sistema de cremallera que posibilita el llenado y vaciado de la misma.
- III. Tubo adsorbente, se ha utilizado el tubo de adsorción estándar de acero inoxidable de 89 mm de longitud y 6,4 mm de diámetro para el sistema ATD 50 (Perkin-Elmer), relleno con 150 mg de Tenax TA 20/40 mallas (SKC). Su esquema se representa en la figura 5.2.

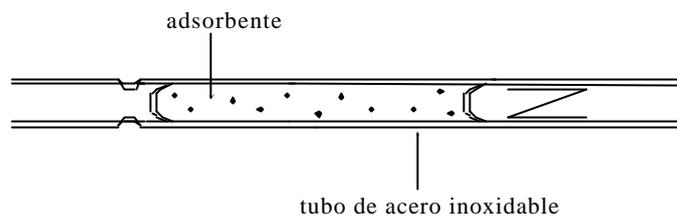


Fig.5.2 Esquema de un tubo adsorbente para la captación de aire exhalado.

-Mecanismo de control de la válvula de tres vías. Según se detalla en la figura 5.3, este mecanismo permite abrir las vías 1 y 2 durante la etapa de aspiración, en la que el aire exhalado recogido se hace pasar desde el tubo de Haldane-Priestley hasta la jeringa, manteniendo la vía 3 cerrada. En una segunda etapa se mantienen abiertas las vías 2 y 3 para hacer pasar el aire exhalado, aspirado en la etapa anterior, desde la jeringa al tubo adsorbente manteniendo cerrada la vía 1.

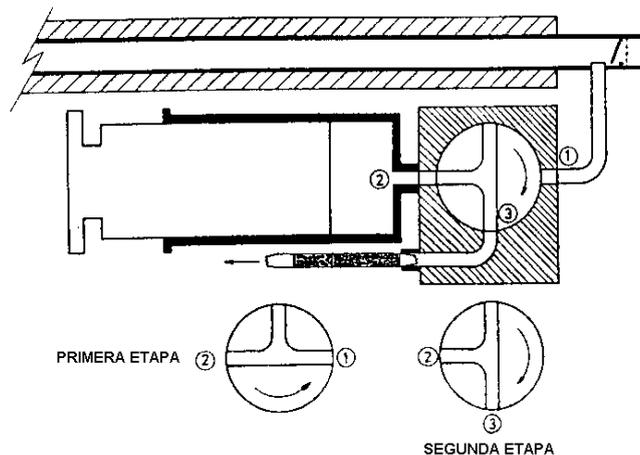


Fig. 5.3 Esquema de funcionamiento de la válvula de tres vías.

-Motor eléctrico y reductora. Mediante el mismo se 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 adsorbente.

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

-Contador de carreras. Mediante el mismo es posible contabilizar el número de repeticiones del proceso completo de aspiración-impulsión.

-Mando a distancia. Este mando permite repetir la secuencia de aspiración-adsorción automáticamente o paso a paso.

En la figura 5.4 se muestra una reproducción del sistema para captación de aire exhalado.

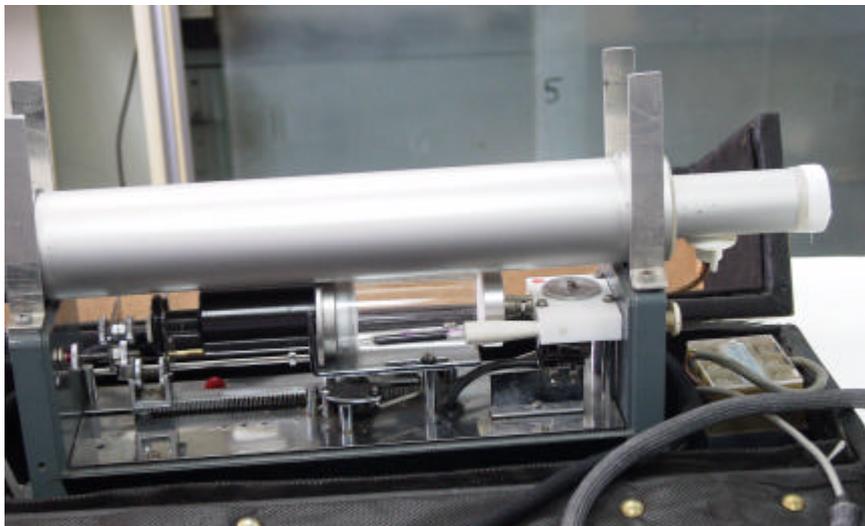


Figura 5.4 Detalle del sistema de captación de aire exhalado.

Para cada toma de muestras se inserta un tubo adsorbente en el sistema de captación, asegurando su hermeticidad. El individuo al que se le toma la muestra debe realizar dos o tres respiraciones profundas para, a continuación, mantener el aire de la última inhalación durante 10-15 segundos en los

pulmones, finalmente realiza una exhalación lenta, prolongada y total a través del tubo de aluminio del sistema de captación. De este modo en el interior del tubo queda la fracción del aire exhalado más representativa de la alveolar. La realización de dos o tres experiencias previas a la de toma de muestras permite adecuar la velocidad de la exhalación a los requerimientos del sistema de toma de muestra. Una vez finalizada cada exhalación se hacen pasar por el tubo adsorbente, siguiendo el esquema de la figura 5.3, cuatro alícuotas de 50 ml cada una.

El procedimiento descrito se puede repetir tantas veces como se considere oportuno sin cambiar de tubo adsorbente, lo habitual es realizarlo un mínimo de 5 veces para tomar una muestra de 1 litro, que es el volumen recomendado para la toma de muestras de aire exhalado al final de la jornada de trabajo. Cuando se realice la toma de muestra en periodos de tiempo alejados de la exposición se puede aumentar el volumen de aire a recoger, lo cual permitirá concentrar la masa de estireno en el tubo adsorbente.

Una vez finalizada la toma de muestras se retira el tubo adsorbente y se cierran sus extremos utilizando tapones del tipo Swagelock. Durante el transporte, las muestras no deben someterse a temperaturas elevadas, y debe impedirse el contacto con fuentes de productos orgánicos volátiles.

Aunque lo habitual es operar del modo descrito anteriormente, el sistema de captación permite un amplio abanico de modalidades en cuanto a la toma de muestras. Se ha comprobado que se pueden tomar volúmenes de aire en el intervalo de 100 a 300 ml por exhalación, sin diferencias significativas en la concentración del compuesto en aire exhalado (14).

El sistema descrito, permite tomar muestras repetidas de la misma exhalación o de exhalaciones sucesivas, que se pueden recoger en el mismo lecho adsorbente, lo que permite enriquecer la muestra hasta alcanzar la cantidad que precise el método analítico.

5.2.2 Método de desorción y análisis

El análisis de los tubos rellenos de adsorbente que contenían los vapores de estireno provenientes de las muestras de aire exhalado se llevó a cabo utilizando el acoplamiento de dos técnicas: desorción térmica y cromatografía

de gases ATD-50 y GC8700 (Perkin-Elmer). La desorción térmica se realizó en dos etapas, en la primera el tubo se calentó durante 10 minutos mientras que, a través del mismo, una corriente de N₂ (N55) a 10 psi (0,7 bar) transfería los vapores desorbidos desde el tubo a una trampa fría a -30°C. En la segunda, se calentó súbitamente la trampa a 300°C para desorber y arrastrar a través de la línea de transferencia caliente los compuestos volátiles adsorbidos, simulando una inyección en la columna del cromatógrafo de gases. Un esquema del sistema empleado ya fue mostrado anteriormente en la figura 4.3. Las condiciones de desorción y análisis son idénticas a las descritas en el capítulo 4 y se exponen en la Tabla 5.1.

Tabla 5.1 Condiciones experimentales para la desorción y el análisis cromatográfico.

TUBOS RELLENOS ATD50	
Adsorbente	Tenax TA
Cantidad	150 mg
CONDICIONES DE DESORCIÓN	
Tipo de desorción	Térmica, dos etapas
Temperatura del horno	200°C
Temperatura de la trampa	-30°C a 300°C
Tiempo de desorción	10 min
ANALISIS CROMATOGRÁFICO	
Equipo	PE 8700
Calibración	Tubos estándar cargados con disoluciones de estireno en metanol o bien volúmenes de aire de concentración conocida en estireno
Gas portador	N ₂ (10 psi, 0,7 bar)
Columna	Capilar, FFAP
Temperatura	Isoterma, 120°C
Detector	FID (200°C)

5.2.3 Preparación de tubos estándar para calibración

La preparación de tubos estándar se llevó a cabo por dos procedimientos diferentes:

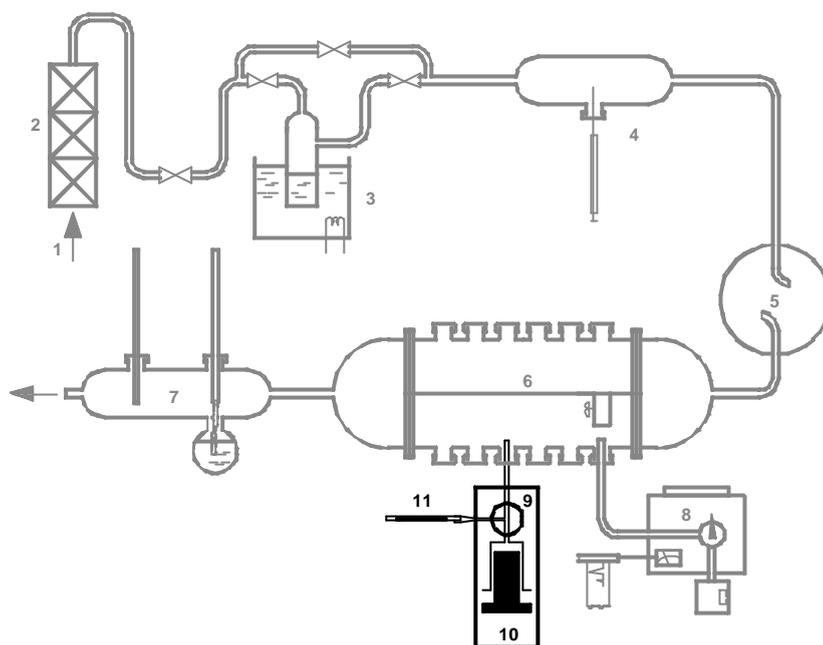
Preparación de tubos estándar mediante adición de disoluciones patrón de estireno.

De forma semejante a lo descrito en el capítulo 4, la preparación de los tubos estándar se realizó inyectando en el interior de cada tubo volúmenes conocidos de distintas disoluciones de estireno (PS Merck) en metanol (PA Merck), de modo que se cubriese todo el rango de calibración. Antes de comenzar la desorción del estireno, siempre se hizo pasar a través de cada tubo, una corriente de N₂ (N55) a 40 ml/min durante 3 minutos, de esta forma se eliminaba el metanol adsorbido evitándose las posibles interferencias en el análisis.

Preparación de tubos estándar para calibración mediante el sistema generador de atmósferas.

Una alternativa de preparación de tubos estándar para calibración es la utilización del sistema generador de atmósferas descrito en el apartado 3.2.4 mediante el cual se generan atmósferas de concentración conocida de estireno, y posteriormente se inyectan diferentes volúmenes del aire de dicha atmósfera a través de tubos adsorbentes. La atmósfera controlada se genera dinámicamente; la concentración de estireno en la misma se comprueba por medio de muestreo activo consistente en el empleo de tubos de carbón activo conectados a la atmósfera mediante una bomba de muestreo.

En la figura 5.5 se representa un esquema del sistema utilizado para la obtención de los estándares de calibración. Se basa en el empleo de una válvula de tres vías a la cual se conectan: una de las salidas de la atmósfera, una jeringa de gases de 50 ml movida por un motor y el tubo adsorbente. Con la jeringa se recogen volúmenes de aire procedente de la atmósfera e, invirtiendo la posición de la válvula, se impulsan hacia el interior del tubo adsorbente donde queda retenido el estireno. El procedimiento es similar al descrito para el sistema de captación de aire exhalado. Recogiendo diferentes volúmenes de aire a través de los tubos adsorbentes se generaron tubos de calibración que cubrían el rango de concentraciones de estireno requerido.



- (1) Entrada de aire
- (2) Filtro
- (3) Humidificador
- (4) Inyector automático
- (5) Cámara de mezcla
- (6) Cámara de muestreo
- (7) Sensor de humedad
- (8) Cromatógrafo de gases
- (9) Válvula de tres vías
- (10) Jeringa con servomotor
- (11) Tubo adsorbente

Figura 5.5 Sistema para preparar los patrones para la calibración.

5.2.4 Determinación de la eficacia de desorción

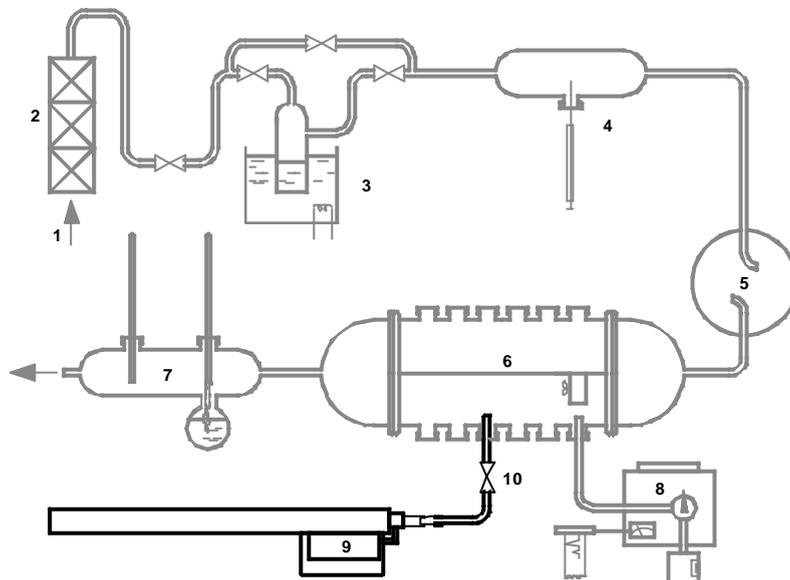
La eficacia de desorción, entendida como la masa que se recupera del tubo respecto a la que previamente se introdujo, debe de ser lo más próxima posible al 100%, por dos razones. Por un lado, conviene que toda la masa retenida sea analizada para obtener una mayor señal analítica y por otro, al ser tubos reutilizables, no debe quedar estireno retenido en su interior tras cada análisis.

Por ello, se optimizaron las condiciones de desorción de modo que se consiguiese la total desorción del estireno recogido. No obstante en todos los casos se realizó una segunda desorción a cada tubo para comprobar si la primera fue total.

5.2.5 Estudio muestreo-análisis

Se llevó a cabo un estudio de validación del sistema de captación con los tubos adsorbentes elegidos para la toma de muestras de estireno en aire exhalado, para lo cual se siguió el Protocolo de validación del INSHT (12).

Para la validación, se utilizó el sistema descrito en la figura 5.6 que se basa en el acoplamiento del generador de atmósferas y el sistema de captación mediante una válvula, y que permite simular fidedignamente una exhalación.



- (1) Entrada de aire
- (2) Filtro
- (3) Humidificador
- (4) Inyector automático
- (5) Cámara de mezcla
- (6) Cámara de muestreo
- (7) Sensor de humedad
- (8) Cromatógrafo de gases
- (9) Sistema de captación de aire exhalado
- (10) Válvula de conexión

Figura 5.6 Esquema de la conexión del sistema de captación de aire exhalado al generador de atmósferas de concentración conocida.

Una vez generada la atmósfera de concentración de estireno a temperatura y humedad controladas, se abría la válvula que une ambos sistemas simulando una exhalación. Cuando había transcurrido tiempo suficiente (aproximadamente 1 minuto), se cerraba la válvula y se hacían pasar alicuotas del aire retenido en el interior del tubo calorifugado hacia el soporte adsorbente donde quedaba adsorbido el agente estudiado. El procedimiento de exhalación simulada y la recogida de alicuotas de cada exhalación se repitió varias veces hasta completar, en cada caso, el volumen de muestreo elegido.

Efecto de la concentración y la humedad.

Se generaron atmósferas controladas a dos niveles de concentración diferentes, dentro del rango de concentración esperado. Con el fin de estudiar la influencia de la humedad sobre el método desarrollado, se tomaron muestras a un nivel de humedad representativo de la del aire ambiental y al nivel de saturación de humedad que se presenta en el espécimen aire exhalado. Se recogieron muestras, por tanto, a dos niveles de humedad muy distintos. Todas las experiencias se realizaron a 20°C de temperatura.

Para cada experiencia se emplearon seis muestreadores, siguiendo el esquema de la Tabla 5.2. Se tomaron cuatro alicuotas de 50 ml de cada exhalación simulada. El procedimiento de exhalación simulada se repitió cinco veces para cada tubo adsorbente haciendo pasar, por tanto, un volumen total de 1 litro procedente de cinco exhalaciones (5x200ml).

Tabla 5.2 Esquema del procedimiento seguido para evaluar los efectos concentración-humedad sobre el método desarrollado.

Concentración (mg/m ³)	Humedad relativa	
	40%	100%
3,8	✓	✓
26,6	✓	✓

Volumen muestreado: 1 litro procedente de 5 exhalaciones simuladas (5x200 ml)

6 muestreadores tomados por cada experiencia

Estudio de la estabilidad de las muestras

La finalidad de este ensayo fue conocer en que medida afecta al muestreador el almacenamiento posterior al muestreo y previo al análisis.

Se tomaron para ello dos muestras adicionales en la experiencia correspondiente a 26 mg/m³ y 100% Hr y se almacenaron a temperatura ambiente (20-25°C) durante 15 días. Transcurrido este período de tiempo, se analizó el contenido de los tubos. Los resultados del análisis, expresados en términos de recuperación, se compararon con los resultados hallados para los 6 muestreadores analizados con anterioridad.

5.3 Resultados y discusión

5.3.1 Condiciones de desorción y análisis

En la figura 5.7 se representa la recta de calibración obtenida mediante la preparación de tubos estándar a partir de disoluciones patrón y en la figura 5.8 se representa la recta de calibración obtenida mediante la preparación de tubos estándar empleando el sistema generador de atmósferas controladas. Las condiciones de desorción y análisis de todos los tubos se detallaron en la Tabla 5.1. El límite de detección en las condiciones analíticas descritas fue de 0,1 µg.

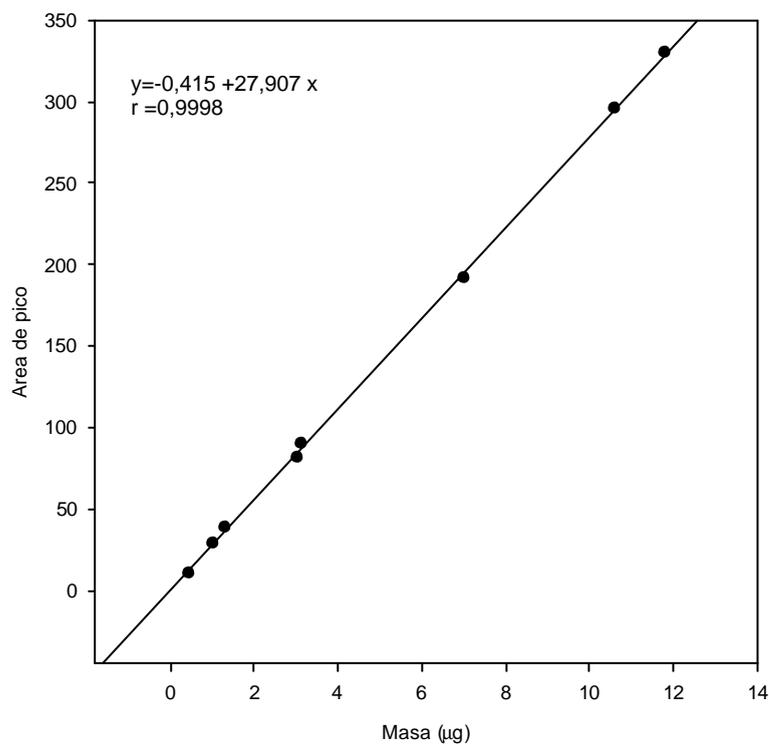


Figura 5.7 Recta de calibración obtenida preparando tubos patrón a partir de disoluciones de concentración de estireno conocida.

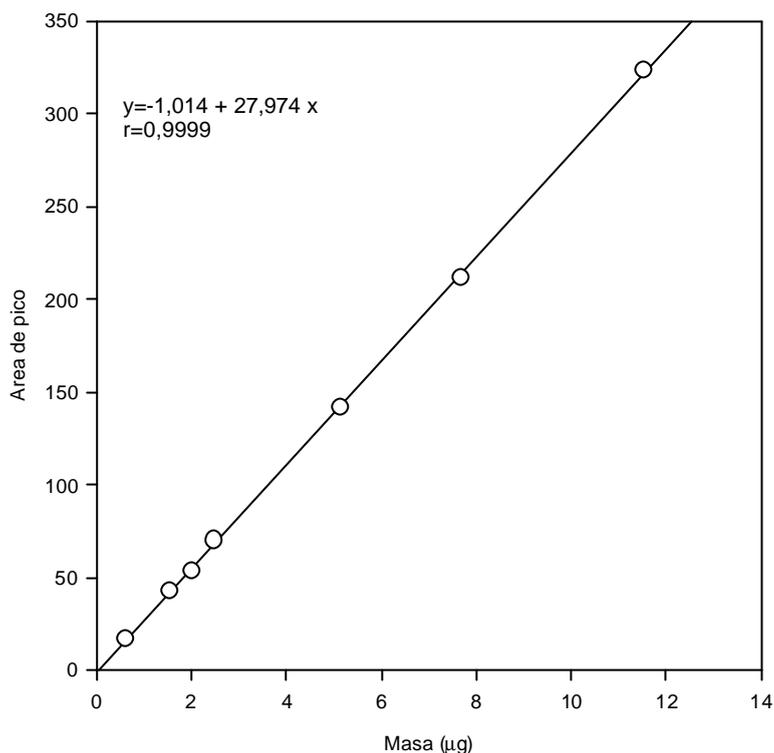


Figura 5.8 Recta de calibración obtenida preparando tubos patrón con el sistema generador de atmósferas.

La preparación de tubos estándar para calibración utilizando el sistema generador de atmósferas controladas se reveló igualmente útil que el sistema de carga de tubos por vía líquida como se desprende de la semejanza entre los resultados de las pendientes de las rectas de calibración que se obtuvieron por los dos modos de operación descritos. El nuevo procedimiento de preparación de tubos patrón para calibración supone, cuando se dispone del sistema generador de atmósferas controladas, una ventaja ya que es mucho menos laborioso que la vía líquida.

Además, para la calibración de un método analítico, la preparación de patrones debe hacerse de igual forma a la que se obtendrán las muestras posteriormente. Puesto que, este método se utiliza para recoger muestras de aire exhalado, la preparación de tubos patrón tomando volúmenes de aire de una atmósfera de concentración conocida se asemeja a lo que sucede en el muestreo.

Una vez comprobada su utilidad, este procedimiento supone una alternativa ventajosa respecto a la preparación de tubos a partir de disoluciones, por lo que ha sido el empleado en este trabajo.

5.3.2 Estudio muestreo-análisis

Para cada tubo tomado en las condiciones descritas en la Tabla 5.2 se realizó la desorción y el análisis en las condiciones descritas en la Tabla 5.1, cuantificándose la cantidad de analito presente en cada muestra. A partir de estos valores de masa se calculó la concentración de analito en el aire exhalado, C_{ae} , expresada en mg/m^3 para lo cual se utilizó la expresión:

$$C_{ae} = \frac{m}{V} \quad \text{Eq. 5.1}$$

donde:

m es la cantidad de analito presente en el tubo adsorbente en mg y

V es el volumen de aire recogido en la toma de muestra en m^3 .

Los resultados de masa analizada y concentración calculada en cada tubo se muestran en la Tabla 5.3.

Tabla 5.3 Resultados experimentales, masa analizada y concentración calculada para las cuatro combinaciones concentración-humedad.

Experiencia	Concentración verdadera (mg/m^3)	Humedad relativa (%)	Masa analizada (μg)	Concentración calculada (mg/m^3)
Baja concentración Baja humedad	3,8	40	3,348	3,38
			3,574	3,61
			3,649	3,67
			3,871	3,91
			3,875	3,91
			3,687	3,72
Baja concentración Alta humedad	3,8	100	3,649	3,69
			3,724	3,76
			3,912	3,95
			3,687	3,72
			3,762	3,80
			3,724	3,76
Alta concentración Baja humedad	26,6	40	25,017	25,27
			26,599	26,87
			26,334	26,60
			26,597	26,87
			27,651	27,93
			26,331	26,60
Alta concentración Alta humedad	26,6	100	26,861	27,13
			24,754	25,00
			26,862	27,13
			28,441	28,72
			27,387	27,66
			26,594	26,87

Dividiendo el valor de concentración hallado según la ecuación 5.3 para cada tubo por el valor de concentración teórica se obtuvieron los valores de recuperación que aparecen en la Tabla 5.4a para cada grupo de muestras. Sobre estos resultados se realizó un análisis de varianza; en la Tabla 5.4b se muestra el resultado de este análisis estadístico del cual se deduce que no existen diferencias significativas para cada uno de los factores principales, concentración y humedad, ni para la interacción de ambos.

El método ha sido validado en el rango de concentración de 3,8 a 26,6 mg/m³ y de humedad relativa de 40 hasta 100%.

Tabla 5.4 Análisis de los datos experimentales.

5.4a. Ensayos realizados					
Concentración (mg/m ³)	Concentración medida/concentración real				
	40% Hr	100% Hr			
3,8	0,89	0,97			
	0,95	0,99			
	0,97	1,04			
	1,03	0,98			
	1,03	1,00			
	0,98	0,99			
26,6	0,95	1,02			
	1,01	0,94			
	1,00	1,02			
	1,01	1,08			
	1,05	1,04			
	1,00	1,01			
5.4b. Análisis de varianza					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F-ratio	Nivel de significación
Entre concentraciones	4,00 x 10 ⁻³	1	4,00 x 10 ⁻³	2,46	0,132 NS
Entre humedades	1,84 x 10 ⁻³	1	1,84 x 10 ⁻³	1,13	0,300 NS
Interacción c x %Hr	3,75 x 10 ⁻⁵	1	3,75 x 10 ⁻⁵	0,02	0,881 NS
Error	0,0325	20	1,63 x 10 ⁻³		
Total	0,0384	23			

NS = no significativo al 95% de confianza

Estabilidad de las muestras

Los resultados del ensayo de almacenamiento se muestran en la Tabla 5.5, la media de los valores de recuperación obtenidos con los tubos analizados de

forma inmediata y la correspondiente a los tubos que se mantuvieron a temperatura ambiente y se analizaron 15 días más tarde difirieron en un 5,2%.

Tabla 5.5 Resultados de los ensayos de almacenamiento.

Situación estudiada	Recuperación de referencia*	Recuperación de almacenamiento**	Error relativo (%)
26,6 mg/m ³ , 100%Hr	0,998	0,946	5,2

* Medía de seis muestreadores

**Medía de dos muestreadores

5.3.3 Perfiles de estireno en aire exhalado

El estudio cuyos resultados se acaban de discutir se llevó a cabo en condiciones experimentales controladas. Adicionalmente, se ensayó el método en la determinación de estireno en el aire exhalado de individuos laboralmente expuestos al mismo.

Se determinó la concentración ambiental a que estuvieron expuestos dos trabajadores durante toda una jornada de trabajo, que duró 6 horas. Al finalizar la exposición se tomaron muestras de aire exhalado a cada individuo, en intervalos de 15 minutos hasta 1,25 horas después. Al día siguiente, una vez transcurridas 24 horas desde el comienzo de la exposición se adquirió una nueva muestra de aire exhalado a cada uno de ellos.

En la figura 5.7 se exponen los resultados obtenidos. Como cabía esperar se encontró un mayor nivel de estireno en el aire exhalado de la persona expuesta a mayor concentración ambiental. Otro aspecto que refleja esta experiencia es que existe una rápida disminución de la concentración en aire exhalado en el periodo posterior al final de la exposición. Por último, se observó que la cantidad de estireno en aire exhalado al comienzo de la siguiente jornada de trabajo no es despreciable cuando los niveles de exposición del día anterior son elevados.

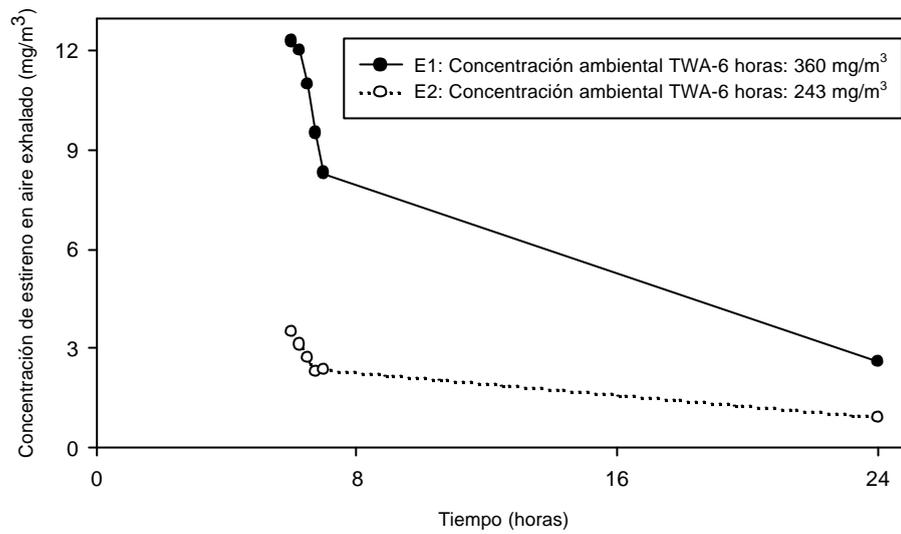


Figura 5.7 Perfiles de estireno en aire exhalado de dos personas laboralmente expuestas a estireno.

5.4 Resumen de las condiciones de utilización

En la Tabla 5.5 se resumen las características de validación del sistema de captación.

Tabla 5.5 Resultados de validación del sistema de captación de aire exhalado para estireno utilizando los tubos ATD-50 Tenax TA.

Eficacia de desorción	>0,99
Intervalo de concentración	3,8-26,6 mg/m ³
Volumen de muestra recogido	1 L
Humedad relativa	40 a 100 %
Almacenamiento	<5,2 % de pérdidas

Con los resultados obtenidos en las distintas experiencias se puede afirmar que el sistema de captación de aire exhalado basado en el empleo de los tubos adsorbentes ATD-50 empaquetados con Tenax TA cumple los requerimientos del protocolo del INSHT para validación de sistemas de toma de muestras de aire exhalado. Por lo tanto, el dispositivo ensayado se puede utilizar en trabajos de campo.

5.5 Bibliografía

- 1 I.N.S.H.T. Límites de Exposición Profesional para Agentes Químicos en España. 2001-2002. *INSHT, Madrid. 2001.*
- 2 A.C.G.I.H. Threshold limit values (TLVs) for chemical substances and physical agents and biological exposure indices (BEIs). *ACGIH Cincinnati, Ohio USA. 1996.*
- 3 Cerný S., Mráz J., Flek J., Tichý M. Effect of ethanol on the urinary excretion of mandelic and phenylglyoxylic acids after human exposure to styrene. *Int. Arch. Occup. Environ. Health. 62: 243-247 1990.*
- 4 Wilson H. K., Robertson S. M., Waldron H. A., Gompertz D. Effect of alcohol on the kinetics of mandelic acid excretion in volunteers exposed to styrene vapour. *Brit. J. Indus. Med. 40: 75-80. 1983.*
- 5 Marhuenda D., Prieto M., Periago J.F., Perbellini J., Cardona A. Biological monitoring of styrene exposure and possible interference of acetone co-exposure. *Int. Arch. Occup. Environ. Health 69: 455-460. 1997.*
- 6 Fernandez J., Caperos J.R. Exposition au styrène. I. Etude expérimentale de l'absorption et de l'excrétion pulmonaire chez des sujets humains. *Int. Arch. Occup. Environ. Health. 40: 1-12. 1977.*
- 7 Engström J., Bjurström R., Astrand I., Övrum P. Uptake, distribution and elimination of styrene in man. *Scand. J. Work Environ. & Health 4: 315-323. 1978.*
- 8 Kelman G.R. Theoretical basis of alveolar sampling. *Br. J. Ind. Med. 39: 259-264. 1982.*
- 9 Wilson H.K. Exhaled air: Physiological basis and sampling techniques. *Scand. J. Work Environ. & Health 12: 174-192. 1986.*
- 10 Periago J.F. Control biológico de disolventes mediante aire exhalado. *INSHT, serie Documentos Técnicos 63.91, ISBN 84-7425-330-6. 1991.*
- 11 Periago J.F., Luna A., Morente A., Zambudio A. Design and evaluation of an exhaled breath sampler for biological monitoring of organic solvents. *J. Appl. Toxicol. 12(2): 91-96. 1992.*
- 12 I.N.S.H.T. Protocolo de validación para la determinación de vapores orgánicos en aire exhalado. *INSHT, Barcelona MTA/PV-IV/92. 1992.*

- 13 Periago J.F., Cardona A., Marhuenda D., Roel J., Villanueva M., Martí J. Biological monitoring of occupational exposure to n-hexane by exhaled air analysis and urine analysis. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 65: 275-278. 1993.
- 14 Periago J.F., Luna A., Morente A. Evaluación de un sistema para la captación de disolventes en aire exhalado. Estudio con voluntarios. *Rev. Toxicol.* 9: 97-102. 1992.
- 15 Prado C., Tortosa J.A., Ibarra I., Periago J.F. Biological monitoring of occupational exposure to isoflurane by measurement of isoflurane exhaled breath. *J. Appl. Toxicol.* 17: 179-183. 1997.

6

EVALUACIÓN DE ESTIRENO EN ORINA MEDIANTE PURGA Y TRAMPA USANDO TUBOS ADSORBENTES PARA DESORCIÓN TÉRMICA Y CROMATOLOGRAFÍA DE GASES

6 DETERMINACIÓN DE ESTIRENO EN ORINA MEDIANTE PURGA Y TRAMPA, DESORCIÓN TÉRMICA Y CROMATOGRAFÍA DE GASES

6.1 Introducción

La orina y la sangre son fluidos biológicos en los que tradicionalmente se han medido determinados parámetros para el control de la salud. Una pequeña cantidad de estireno se elimina en la orina sin sufrir ningún tipo de metabolización. Así pues, la medida de la excreción urinaria de este compuesto podría ser un indicador muy útil de la exposición laboral ya que no estaría sometido a las fuentes de variabilidad que afectan a la excreción de los metabolitos de estireno como son el ácido mandélico y el ácido fenilglicólico (1-3).

El estireno se excreta en la orina por un proceso basado en la difusión tubular, que está gobernado por el equilibrio entre las presiones parciales de este compuesto en orina y plasma, como consecuencia la proporción entre las concentraciones de estireno en orina y sangre tienden a igualarse con los coeficientes de distribución en ambos especímenes (4).

La concentración esperada de estireno en la orina de sujetos laboralmente expuestos al mismo es baja y, por tanto, para su determinación es necesario utilizar técnicas analíticas muy sensibles. Se han descrito métodos para la determinación de estireno en orina basados en la técnica de espacio de cabeza (5-7). La utilización de un procedimiento de purga y trampa podría ser útil para medir estos niveles de concentración de estireno en orina y supondría una alternativa adecuada a la técnica mencionada.

En este capítulo se describen las experiencias realizadas para desarrollar un método para la determinación de estireno en orina basado en la purga del estireno utilizando una corriente de gas inerte y su retención en un adsorbente sólido. A continuación el estireno retenido en el adsorbente se determina mediante desorción térmica - cromatografía de gases.

6.2 Materiales y métodos

6.2.1 Método de purga y trampa

En la figura 6.1 se muestra el esquema del sistema de purga y trampa utilizado. A cada muestra de 10 ml de orina se le adicionaron 1,5 ml de metanol (PA Merck) para minimizar la formación de espumas. El conjunto se mantuvo a una temperatura de 27°C con la ayuda de un baño termostático y se purgó con He (N55) a un caudal de 45 ml/min durante 11 min. El caudal se midió con un flujómetro digital (Scientific Glass Engineering). Como trampa se utilizó el tubo estándar de vidrio para el sistema de desorción térmica ATD 50 (Perkin-Elmer) (89 mm x 6.4 mm OD), empaquetado con 150 mg de Tenax TA (20-40 mallas, SKC) que se acondicionó previamente. Los tubos se incorporaban al sistema utilizando férulas de PTFE con conexiones de tipo Swagelock de 1/4 de pulgada. Un esquema de los tubos se muestra en la figura 6.2.

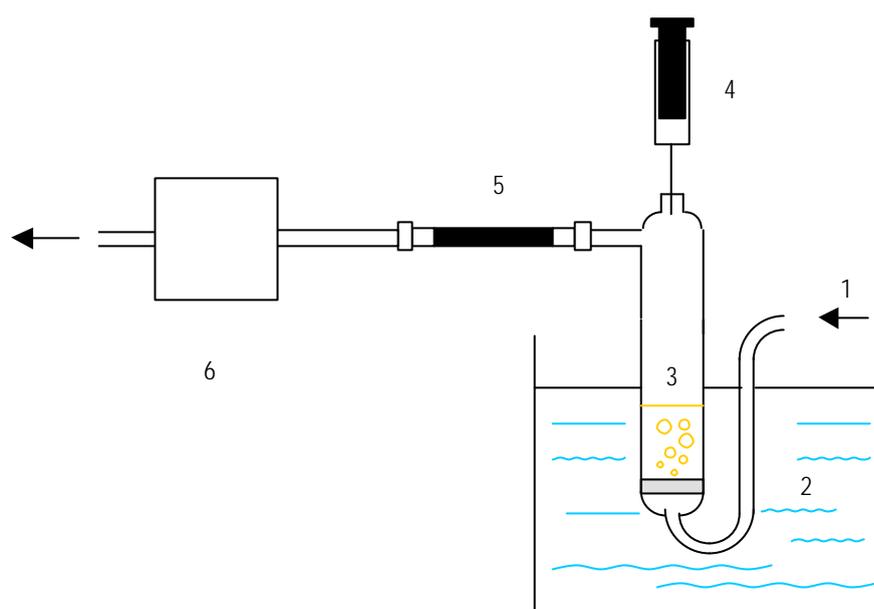


Figura 6.1 Esquema del sistema de purga y trampa utilizado: (1) entrada de gas de purga; (2) Baño termostático; (3) muestra de orina; (4) jeringa para adicionar las muestras de orina; (5) tubo relleno de adsorbente; (6) flujómetro digital.

Para el almacenamiento previo al análisis se utilizaron unos cierres tipo Swagelock. Las condiciones de extracción más adecuadas se optimizaron utilizando el método "simplex" (8,9), midiéndose la recuperación sobre muestras

de orina a las que previamente se les había adicionado una cantidad de estireno (PS Merck) conocida.

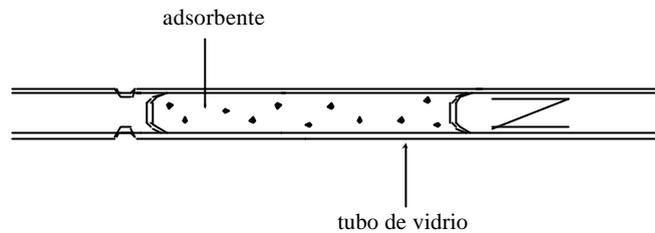


Figura 6.2 Esquema del tubo adsorbente empleado como trampa.

En la figura 6.3 se muestra una reproducción del tubo de vidrio relleno de Tenax TA.



Figura 6.3 Tubo adsorbente empleado como trampa.

6.2.2 Desorción y análisis

El análisis de los tubos rellenos de adsorbente, que contenían los vapores de estireno provenientes de las muestras de orina, se llevó a cabo utilizando la técnica de desorción térmica y cromatografía de gases. El estireno adsorbido en cada tubo se desorbió utilizando el sistema de desorción térmica (Perkin-Elmer) descrito en el apartado 4.2.3, que se encuentra conectado al

cromatógrafo de gases PE 8700 (Perkin-Elmer) mediante una línea de transferencia caliente.

Las condiciones experimentales de desorción y análisis se presentan en la Tabla 6.1.

Tabla 6.1 Condiciones experimentales para la desorción y el análisis cromatográfico.

TUBOS DE VIDRIO PARA ATD50	
Adsorbente	Tenax TA
Cantidad	150 mg
CONDICIONES DE DESORCIÓN	
Tipo de desorción	Térmica, dos etapas
Temperatura del horno	200°C
Temperatura de la trampa	-30°C a 300°C
Tiempo de desorción	10 min
Eficacia de desorción	>0,99
ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO	
Equipo	PE 8700
Calibración	Tubos estándar cargados con disoluciones de estireno en metanol o bien volúmenes de aire de concentración conocida en estireno
Gas portador	N ₂ (10 psi, 0,7 bar)
Columna	Capilar, FFAP
Temperatura	Isoterma, 120°C
Detector	FID (200°C)

Los tubos estándar para la calibración se prepararon inyectando volúmenes conocidos de distintas disoluciones de estireno en metanol, de modo que se cubriese todo el rango de concentraciones esperado. Antes de comenzar la desorción, se hizo pasar a través de cada tubo una corriente de N₂ (N55) a 40 ml/min durante 3 minutos, de esta forma se purgó el metanol adsorbido para evitar la interferencia del disolvente en el análisis cromatográfico.

6.2.3 Estudio muestreo-análisis

Ensayos de recuperación

Para calcular la recuperación del estireno presente en la orina, se llevaron a cabo ensayos a dos niveles de concentración utilizando muestras de orina adicionadas con pequeñas cantidades de estireno. En ambos casos, se procedió del siguiente modo: volúmenes idénticos de una disolución de estireno en metanol, medido con la misma microjeringa, se inyectaron al interior de tubos adsorbentes (tubos estándar) y a viales de vidrio encapsulados con sello de aluminio que contenían 10 ml de orina. Para cada nivel de concentración se prepararon siete tubos estándar y siete muestras de orina adicionadas.

A continuación se procedió a la extracción del estireno de las muestras de orina adicionadas siguiendo el procedimiento de purga y trampa descrito en 6.2.1. Para cada grupo de muestras se analizaron también blancos -muestras de la misma orina sin adicionarle estireno- que se sometieron al mismo procedimiento de extracción. Finalmente, se procedió a la desorción térmica y el análisis de todos los tubos obtenidos: los tubos estándar a los que se había añadido estireno y los tubos utilizados en el sistema de purga y trampa.

Estudio de la estabilidad de las muestras

Para observar si el paso del tiempo podía suponer un deterioro de las muestras de orina y, en definitiva, afectar al valor de concentración de estireno a determinar, se preparó un conjunto de ocho muestras de orina a las que se añadió estireno con una concentración de 112 µg/L en viales de vidrio de 10 ml encapsulados con sello de aluminio. De todo el conjunto, dos muestras se analizaron de forma inmediata y el resto se almacenó a -25°C. Las muestras almacenadas se analizaron, en grupos de dos, a los 5, 20 y 60 días.

Repetibilidad del procedimiento analítico

Se ha estudiado la repetibilidad del procedimiento de análisis sobre las muestras de orina de tres sujetos laboralmente expuestos. Para ello, se analizaron tres alícuotas de 10 ml de la misma muestra de orina de cada uno de los trabajadores expuestos. Las alícuotas se mantuvieron en viales de vidrio encapsulados con sello de aluminio hasta que se realizó la extracción y el análisis del estireno presente en las mismas siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 6.2.1.

6.3 Resultados y discusión

6.3.1 Condiciones analíticas

Se analizaron los tubos patrón preparados en las condiciones analíticas descritas en la Tabla 6.1. El límite de detección de la técnica, que se obtuvo analizando las muestras de orina de acuerdo con el protocolo descrito en 6.2, fue de 0,70 µg/L. En la figura 6.4 se muestra la recta de calibrado obtenida, el rango de linealidad hallado es adecuado para el análisis de las concentraciones de estireno que cabe esperar en sujetos laboralmente expuestos a concentraciones ambientales entre 0,25 y 10 veces el actual valor límite VLA-ED del INSHT (86 mg/m³) (5-7,10-13).

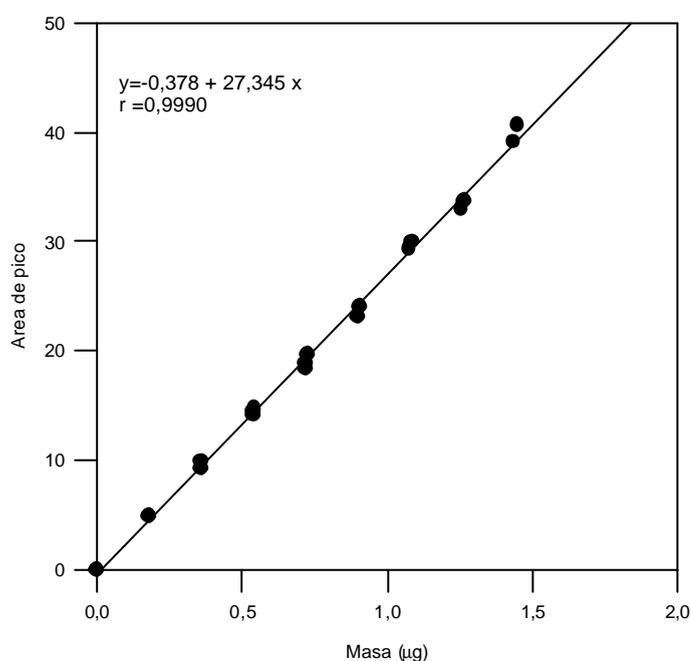


Figura 6.4 Recta de calibración obtenida preparando tubos patrón.

6.3.2 Resultados de recuperación

Los valores de la recuperación de estireno, calculados a dos niveles diferentes de concentración en muestras de orina, se recogen en la Tabla 6.2. Se han obtenido valores de recuperación media de 0,95 y 0,94 para los dos niveles de concentración estudiados. Estos resultados confirman la utilidad de la metodología descrita para la determinación directa de estireno en orina.

Mediante la técnica de espacio de cabeza, se analiza el estireno en el volumen de aire en equilibrio con la orina, por lo que es preciso corregir este resultado en función del coeficiente de partición del compuesto entre la fase gaseosa y la fase líquida, en las condiciones de análisis, para obtener la concentración de estireno en la orina. Sin embargo, el procedimiento analítico desarrollado en este estudio supone la determinación directa de la concentración total en la orina. La desviación estándar relativa (R.S.D.) máxima obtenida para los tubos estándar fue 2,53% y para las muestras de orina 5,37%.

Tabla 6.2 Recuperación en muestras de orina adicionadas.

Nivel 1		Nivel 2	
Estándar (μg)	Orina (μg)	Estándar (μg)	Orina (μg)
1,34	1,31	0,76	0,71
1,33	1,38	0,82	0,70
1,35	1,19	0,76	0,73
1,36	1,25	0,82	0,75
1,36	1,40	0,80	0,77
1,43	1,31	0,78	0,77
1,38	1,28	0,79	0,73
Media 1,37	Media 1,30	Media 0,79	Media 0,74
S.D. 0,03	S.D. 0,07	S.D. 0,02	S.D. 0,03
R.S.D. 2,19%	R.S.D. 5,37%	R.S.D. 2,53%	R.S.D.
4,05%			
Recuperación = 0,95		Recuperación = 0,94	
Media	Media aritmética		
S.D.	Desviación estándar		
R.S.D.	Desviación estándar relativa		

6.3.3 Almacenamiento

Los resultados de los ensayos de almacenamiento de las muestras de orina se han recogido en la figura 6.5, en la que se representan los valores medios de concentración en $\mu\text{g/L}$ de cada par de muestras frente al tiempo de almacenamiento en días. Se detectaron pérdidas significativas en aquellas muestras que se analizaron transcurridos 60 días desde su recogida.

No obstante, utilizando el procedimiento descrito se pueden almacenar los tubos tras la purga, en lugar de las muestras de orina. Cuando se analizó el estireno retenido en tubos rellenos de absorbente, tomados directamente de atmósferas de concentración conocida de estireno, no se apreciaron pérdidas significativas tras su almacenamiento a 4°C durante más de 15 días (14).

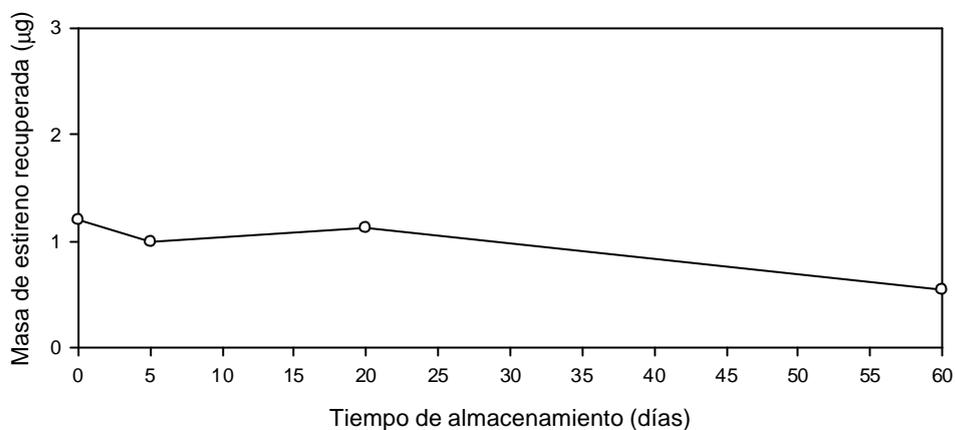


Figura 6.5 Recuperación de estireno en muestras de orina adicionadas y almacenadas a -25°C.

Por otro lado, hay que señalar que los tubos preparados por el Comité Europeo de Normalización como material certificado de referencia para ensayos interlaboratorio tienen garantizada una estabilidad permanente durante años para compuestos muy semejantes a estireno, tales como benceno, tolueno y xileno.

6.3.4 Repetibilidad

En la Tabla 6.3 se muestran los resultados de la aplicación del procedimiento de purga y trampa sobre tres alícuotas de las muestras de orina procedentes de tres sujetos laboralmente expuestos a estireno en diferentes industrias de fabricación de productos de plástico reforzado con fibra de vidrio. La desviación estándar relativa para los tres grupos de muestras analizados estuvo entre el 2,4% y el 5,2%.

Tabla 6.3. Repetibilidad en la determinación de estireno en muestras de orina de sujetos laboralmente expuestos.

Sujeto	Concentración de estireno (µg/L)			R.S.D. (%)
1	117	121	124	2,9
2	92	96	96	2,4
3	31	28	29	5,2

R.S.D. Desviación estándar relativa

6.4 Resumen de las condiciones de utilización del procedimiento

En la Tabla 6.4 se resumen las características que presenta este método para el análisis de estireno en orina.

Tabla 6.4 Resultados del método de evaluación de estireno en orina mediante purga y trampa utilizando los tubos ATD-50 rellenos de Tenax TA.

Volumen de orina analizada	10 ml
Tiempo de purga	11 min
Gas de purga	He (45 ml/min)
Recuperación	0,94
Almacenamiento de muestras de orina	hasta 20 días
Repetibilidad	R.S.D. < 5,5%

R.S.D. Desviación estándar relativa de tres muestras

Con los resultados obtenidos en las distintas experiencias se puede afirmar que el método de evaluación de estireno en orina mediante purga y trampa basado en el empleo de los tubos de vidrio ATD-50 rellenos de Tenax TA, se puede utilizar para evaluar la concentración de estireno en orina de personas laboralmente expuestas.

6.5 Bibliografía

- 1 Guillemin M.P., Berode M. Biological monitoring of styrene: a review. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 49(10): 497-505. 1988.
- 2 De Rosa E., Bartolucci G.B., Perbellini L., Brugnone F. Y Rausa G. Environmental and biological monitoring of exposure to toluene, styrene, and n-hexane. *Appl. Ind. Hyg.* 3,12: 332-337. 1988.
- 3 Cerný S., Mráz J., Flek J., Tichý M. Effect of ethanol on the urinary excretion of mandelic and phenylglyoxylic acids after human exposure to styrene. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 62: 243-247. 1990.

- 4 Rosemberg J., Fiserova-Bergerova V., Lowry L. Biological monitoring IV: measurements in urine. *Appl. Ind. Hyg.* 4: F16-F19. 1989.
- 5 Pezzagno G., Ghittori S., Imbriani M., Capodaglio E. Urinary elimination of styrene in experimental and occupational exposure. *Scand. J. Work. Environ. & Health* 11: 371-379. 1985.
- 6 Perbellini L., Romeo G., Maranelli G., Zardini G., Alexopoulos C., Brugnone F. Biological monitoring of fluctuating occupational exposures to styrene. *Med. Lav.* 81(5): 382-389. 1990.
- 7 Gobba F., Galassi C., Ghittori S., Imbriani M., Pugliese F., Cavalleri A. Urinary styrene in the biological monitoring of styrene exposure. *Scand. J. Work. Environ. & Health* 19: 175-182. 1993.
- 8 Bazaraa M.S., Sherali H.D., Shetty C.M. Non linear programming. Theory and algorithms. *Ed. Willey.* 1993.
- 9 Nelder J.A., Mead R. A Simplex method for function minimization. *Comput. J.* 7: 308. 1965.
- 10 Ghittori S., Imbriani M., Pezzagno G., Capodaglio E. The urinary concentration of solvents as a biological indicator of exposure: proposal for the biological equivalent exposure limit for nine solvents. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 48(9): 786-790. 1987.
- 11 Kawai T., Yasugi T., Mizunuma K., Horiguchi S., Morioka I., Miyashita K., Uchida Y., Ikeda M. Monitoring of workers exposed to a mixture of toluene, styrene and methanol vapours by means of diffusive air sampling, blood analysis and urinalysis. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 63: 429-435. 1992.
- 12 Kawai T., Yasugi T., Mizunuma K., Horiguchi S., Iguchi H., Uchida Y., Iwami O., Ikeda M. Comparative evaluation of urinalysis and blood analysis as means of detecting exposure to organic solvents at low concentrations. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 64: 223-234. 1992.
- 13 Ong C.N., Shi C.Y., Chia S.E., Chua S.C., Ong H.Y., Lee B.L., Ng T.P., Teramoto K. Biological monitoring of exposure to low concentrations of styrene. *Am. J. Ind. Med.* 25:719-730. 1994.
- 14 Periago J.F., Prado C., Ibarra I., Tortosa J. Application of thermal desorption to the biological monitoring of organic compounds in exhaled breath. *J. Chromatogr. A* 657: 147-153. 1993.

7

ANÁLISIS
COMPARATIVO
ENTRE LOS
PROCEDIMIENTOS
DE
CONTROL AMBIENTAL
EN UNA POBLACIÓN
LABORALMENTE
EXPUESTA

7 ANÁLISIS COMPARATIVO ENTRE LOS PROCEDIMIENTOS DE CONTROL AMBIENTAL EN UNA POBLACIÓN LABORALMENTE EXPUESTA

7.1 Introducción

La forma tradicional de evaluar la concentración ambiental de un disolvente orgánico, consiste en hacer pasar el aire, aspirándolo con una bomba portátil, a través de un tubo que contiene carbón activo que es capaz de retener los vapores de disolvente presentes en el mismo. Esta técnica de toma de muestras recibe el nombre de muestreo dinámico o activo. Una alternativa al muestreo activo que se ha desarrollado extensamente en los últimos años es el muestreo pasivo. El muestreo pasivo se basa en la difusión de los contaminantes desde el ambiente hasta la superficie de un adsorbente, el fenómeno se rige por la ley de Fick (1).

Desde que en 1973 Palmes y Gunisson introdujeron la posibilidad de utilizar la difusión molecular para el desarrollo de monitores pasivos (2) se han llevado a cabo numerosos estudios sobre sistemas basados en la difusión, tanto desde el punto de vista teórico (1,3,4), como experimental y de aplicación (5-9). También se han realizado estudios comparativos entre los procedimientos de captación, activo y pasivo, en diferentes situaciones, en experiencias llevadas a cabo en el laboratorio, generando atmósferas de concentración conocida, y en experiencias de campo (10-16). Esto se debe a la necesidad de comprobar si la velocidad de captación calculada para el muestreador, que se determina en atmósferas de concentración conocida y estacionaria, es útil también cuando se consideran concentraciones que no son constantes y que pueden fluctuar en periodos cortos de tiempo (17). Los protocolos de validación de los muestreadores pasivos incluyen estas comparaciones (18-20) y en general son más exigentes que los utilizados para validar muestreadores dinámicos.

El contaminante adsorbido, generalmente, se desorbe empleando un disolvente y se determina cuantitativamente mediante cromatografía de gases. Otra posibilidad consiste en utilizar un sistema de desorción térmica conectado al cromatógrafo de gases, la ventaja de esto último es su mayor sensibilidad ya que todo el agente captado puede ser analizado. En los capítulos 3 y 4 se describieron los procedimientos llevados a cabo para validar dos métodos alternativos de evaluación de la concentración ambiental de estireno

mediante muestreo pasivo, uno para desorción con disolvente en el capítulo 3 y el otro para desorción térmica en el capítulo 4.

Aunque el muestreador pasivo haya sido validado, y se haya analizado el efecto de los factores ambientales en ensayos de laboratorio, puede que existan en el lugar de trabajo algunos factores que influyan en el funcionamiento del muestreador pasivo por difusión. Tales factores pueden ser variaciones rápidas de la concentración, o interferencias imprevistas. Por lo tanto, es conveniente realizar ensayos en las condiciones típicas de utilización prevista del muestreador, con el fin de determinar la existencia de cualquier diferencia sistemática entre los resultados obtenidos con los muestreadores pasivos y los de un método independiente, tal como la captación en un tubo de relleno de carbón activo conectado a una bomba de aspiración (18,19). Se debe tener en cuenta que, ni el muestreador pasivo por difusión ni el método independiente dan el resultado "verdadero" ya que ambos procedimientos de toma de muestra están sujetos a error.

En este capítulo se ha realizado un estudio comparativo entre tres técnicas de muestreo, las dos de muestreo pasivo validadas y la técnica más ampliamente implantada, el muestreo dinámico en tubos rellenos de carbón activo. Para ello se ha realizado muestreo personal utilizando simultáneamente los tres muestreadores en situaciones de exposición laboral real.

7.2 Materiales y métodos

7.2.1 Toma de muestras ambientales

El estudio se ha llevado a cabo en 18 empresas de la región de Murcia dedicadas a la fabricación de productos de plástico reforzado con fibra de vidrio, de tamaño y utilidad variados, desde embarcaciones de recreo hasta pequeños accesorios como cascos o varillas. En las empresas, que eran de pequeño tamaño, el número de trabajadores no era muy elevado, seis por término medio y un máximo de once. En total se han tomado muestras a 115 personas expuestas a estireno en su trabajo. La actividad tan variada de las empresas seleccionadas hace prever un intervalo de concentración ambiental de estireno amplio.

Se utilizaron tres muestreadores diferentes para cada individuo que se colocaron siempre, lo más juntos posible entre sí, en la solapa de la ropa de trabajo de cada individuo. Se ha comprobado que, si se sitúan en distinto lado, las concentraciones medidas por cada uno pueden presentar diferencias notables debido a su distinta posición relativa respecto a las fuentes de

contaminación o a los sistemas de ventilación (10). La solapa se encuentra suficientemente cerca de la zona de respiración del trabajador y por tanto el aire recogido es representativo del respirado. Los muestreadores utilizados, que se empleaban simultáneamente, fueron un muestreador activo y dos muestreadores pasivos distintos para cada trabajador. La bomba necesaria para el sistema dinámico se colgaba de un cinturón a cada individuo.

El muestreador activo consistió en el tubo de vidrio relleno de carbón activo (SKC) conectado a una bomba de aspiración. Cada tubo de vidrio mide 110 mm de largo y 8 mm de diámetro, se encuentra relleno con carbón activo de 20/40 mallas en dos secciones de 400 y 200 mg cada una. Las dos secciones se encuentran separadas entre sí 4 mm. La sección de 200 mg sólo se utiliza para comprobar la posible saturación de la sección de 400 mg que es la que está más próxima a la entrada de aire. El caudal de aspiración se fijó para todos los muestreos en 200 ml/min.

Uno de los muestreadores pasivos empleados fue el muestreador pasivo 3M-3500 (3M), que presenta una longitud de difusión de 9,5 mm y un área de difusión de 5 cm², tanto las características de este muestreador como las etapas de su proceso de validación para la captación de estireno se describieron en el capítulo 3. La validación se realizó utilizando una cámara para la obtención de atmósferas de concentración conocida y la velocidad de muestreo que se obtuvo fue de 28,12 ml/min.

El otro sistema de muestreo pasivo empleado fue el tubo de acero inoxidable para el sistema de desorción térmica ATD50 (Perkin-Elmer) relleno con 150 mg de Tenax TA, descrito en el capítulo 4. Presenta un área de difusión de 0,2 cm² y una longitud de difusión de 1,5 cm. Para su utilización como muestreador pasivo, se emplea un cabezal de difusión en un extremo del tubo y un tapón tipo Swagelock en el otro. Tanto las características del muestreador como las etapas de su proceso de validación se describieron en el capítulo 4. Su velocidad de captación resultó ser de 0,54 ml/min.

7.2.2 Análisis

Las condiciones de desorción y análisis se resumen en la Tabla 7.1, para el muestreador dinámico se basan en lo recomendado por el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (21) y para los muestreadores pasivos 3M-3500 y ATD-50 relleno de Tenax TA fueron las que aparecen en los capítulos 3 y 4 respectivamente.

Tabla 7.1 Condiciones experimentales para la desorción y el análisis cromatográfico.

MUESTREADOR	Tubo SKC	3M-3500	ATD50
Adsorbente	Carbón de coco	Lámina de carbón activo	Tenax TA
Cantidad	400/200 mg	Standard	150 mg
U	200 ml/min (caudal)	28,12 ml/min	0,54 ml/min
CONDICIONES DE DESORCIÓN			
Tipo de desorción	Con disolvente	Con disolvente	Térmica, dos etapas
Coefficiente de desorción	0,87	0,90	>0,99
Volumen de desorción	3 ml S ₂ C	1,5 ml S ₂ C	---
Temperatura del horno	---	---	200°C
Temperatura de la trampa	---	---	-30°C a 300°C
ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO			
Equipo	HP 5890	HP 5890	PE 8700
Calibración	Disoluciones estándar de estireno en S ₂ C	Disoluciones estándar de estireno en S ₂ C	Tubos estándar cargados a partir de disoluciones de estireno en metanol
Gas portador	N ₂	N ₂	N ₂
Columna	Apieción L	Apieción L	Capilar, FFAP
Temperatura	75-150°C, a 15°C/min	75-150°C, a 15°C/min	Isoterma, 120°C
Detector	FID	FID	FID

Tras el análisis la concentración ambiental, C_a , en mg/m³ se calculó para los muestreadores dinámicos mediante la expresión:

$$C_a = \frac{m \times d}{Q \times t} \times 10^3 \quad \text{Eq. 7.1}$$

donde:

m es la masa analizada en µg,

d es el coeficiente de desorción en tanto por uno,

t es el tiempo de duración del muestreo en minutos y

Q es el caudal en ml/min.

Para los sistemas pasivos la concentración ambiental, C_a , en mg/m^3 se calculó mediante la expresión:

$$C_a = \frac{m \times d}{U \times t} \times 10^3 \quad \text{Eq. 7.2}$$

donde:

m es la masa de contaminante analizada en mg,

d es el coeficiente de desorción en tanto por uno,

t es el periodo que dura el muestreo en minutos y

U es la velocidad de captación en ml/min

7.3 Resultados y discusión

Mediante el uso de cada uno de los tres métodos de muestreo se ha obtenido la medida de la concentración ambiental de estireno a la que estaba expuesto cada individuo. Del total de muestras, se descartaron aquellas en las que, durante su recogida, surgió alguna anomalía, tales como fallos mecánicos en la bomba de captación, proyecciones o depósitos de sólidos o líquidos sobre la superficie de difusión y algunas otras en los que los muestreadores quedaron ocultos bajo la ropa de los trabajadores.

En la Tabla 7.2 se muestran los datos estadísticos más significativos que se obtuvieron tras la medida de la concentración ambiental por cada uno de los tres métodos de muestreo-análisis. Como se puede apreciar, el menor número de muestras útiles se obtuvo con muestreo dinámico, debido a problemas de mantenimiento del caudal o fallos de las bombas. Por el contrario para los dos métodos pasivos se rechazaron muy pocas muestras.

La relación entre dos métodos de muestreo puede ser determinada por un análisis de regresión lineal (10-14). El resultado del análisis por regresión lineal dará unos valores de a y b de la ecuación:

$$y = a + bx \quad \text{Eq. 7.3}$$

donde

y es el valor de concentración hallado por el nuevo método y

x es el valor de concentración hallado por el método de referencia

Tabla 7.2 Resultados estadísticos de los muestreos ambientales.

Datos estadísticos	CA* (mg/m ³)	3M-3500** (mg/m ³)	ATD*** (mg/m ³)
Número de muestras	90	105	102
Media aritmética	99,1	92,2	89,7
Mediana	80,0	67,2	62,9
Máximo	514,8	455,3	536,8
Mínimo	0,6	0,8	1,0
Media geométrica	48,3	51,6	48,7
Desviación estándar	97,2	110,6	93,1

* Muestras tomadas mediante aspiración con bomba y tubos rellenos de carbón activo. (Q aproximado 200 ml/min)

** Muestras tomadas con muestreador pasivo 3M-3500

*** Muestras tomadas con muestreador pasivo ATD-50

Si los resultados obtenidos para cada muestreador no dependieran del método utilizado en cada caso, la recta de regresión tendría una ordenada en el origen de 0 y una pendiente de 1. Asimismo, el coeficiente de correlación, *r*, entre los resultados obtenidos por ambos métodos sería 1. Esta situación ideal nunca ocurrirá en la práctica ya que, aunque los errores sistemáticos estuvieran ausentes, los aleatorios asegurarían diferencias entre los resultados obtenidos con dos métodos diferentes. Cuando la ordenada en el origen es distinta de 0 puede ser debido a un error en la concentración de fondo medida por alguno de los métodos. Por otra parte, cuando la pendiente difiere de la unidad se puede deber a errores sistemáticos asociados con el procedimiento analítico o la toma de muestra (22).

Se ha realizado dicha prueba a los dos métodos de muestreo pasivo utilizando el de muestreo dinámico como método de referencia. Los resultados del método dinámico se representan en el eje de abscisas y los del pasivo en ordenadas.

En las figuras 7.1 y 7.2 se representan, respectivamente, la recta de regresión entre los resultados obtenidos por los muestreadores pasivos 3M-3500 y ATD50 frente a los resultados del método dinámico. En la Tabla 7.3 se muestran los valores de pendiente y la ordenada en el origen junto con el intervalo de confianza para dichos valores para el 95% de probabilidad. Los resultados obtenidos presentan un valor de pendiente que incluye a la unidad para unos límites de confianza del 95%. De igual forma, para el 95% de confianza, la ordenada en el origen incluye al 0, todo ello indica una gran concordancia entre los valores hallados por los distintos métodos.

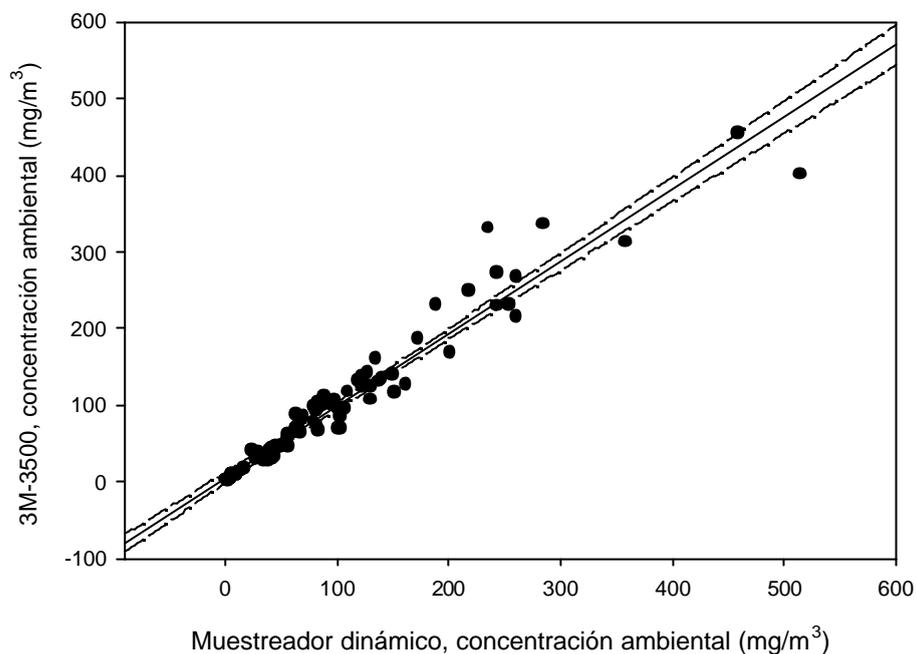


Figura 7.1 Recta de regresión entre las concentraciones ambientales obtenidas mediante muestreo dinámico y el muestreador 3M-3500.

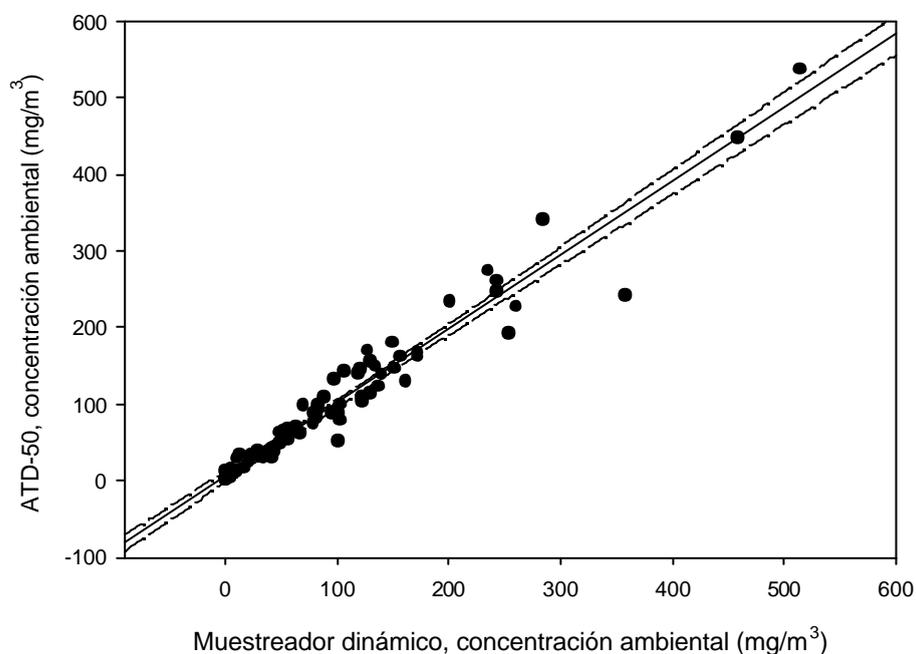


Figura 7.2 Recta de regresión entre las concentraciones ambientales obtenidas mediante muestreo dinámico y el muestreador ATD-50.

Tabla 7.3 Análisis de regresión entre métodos nuevos y método de referencia ($y = a + bx$).

Pareja de muestras	a (límites de confianza 95%)	b (límites de confianza 95%)	r
CA* vs. 3M-3500**	5,4 (-2,0 a 12,9)	0,945 (0,890 a 1,001)	0,970
CA vs. ATD-50***	5,5 (-1,7 a 12,8)	0,962 (0,910 a 1,014)	0,973

* Muestras tomadas mediante aspiración con bomba y tubos rellenos de carbón activo. (Q aproximado 200 ml/min)

** Muestras tomadas con muestreador pasivo 3M-3500

*** Muestras tomadas con muestreador pasivo ATD-50

a ordenada en el origen

b pendiente

r coeficiente de regresión

La utilización de la prueba de regresión lineal se basa en la suposición de que el método de referencia no tenga asociados errores y que los resultados obtenidos con él se representen en el eje de abscisas, de modo que los errores sólo serían imputables al método representado en el eje de ordenadas. Esto no es del todo cierto, ya que el sistema tradicional con bomba de aspiración presenta errores debidos a la calibración y al mantenimiento del flujo durante la toma de muestra que pueden oscilar entre el 5 y el 10% (4,23).

Por ello, también se han utilizado para la comparación de los métodos la *prueba t de Student* y la *prueba de rangos y signos de Wilcoxon* para muestras apareadas.

La *prueba t de Student* adopta como hipótesis nula que la media de las diferencias entre las concentraciones dadas por dos métodos distintos es cero.

La *prueba de rangos y signos de Wilcoxon* adopta como hipótesis nula que la mediana de las diferencias entre los resultados obtenidos por dos métodos distintos es cero.

El *test de Wilcoxon* es un método no paramétrico y se ve menos afectado por la presencia de puntos alejados, "outliers", que la prueba t. Por el contrario, esta última es más adecuada cuando los datos obedecen a una distribución normal.

Se ha realizado la *prueba t de Student* a las tres posibles combinaciones, dinámico vs. 3M-3500, dinámico vs. ATD50 y 3M-3500 vs. ATD50. El valor de *t* crítico, teniendo en cuenta el número de parejas de datos ($n > 50$), para un límite de confianza del 95% es de 1,96 en las tres combinaciones. En la Tabla 7.4 se muestran los resultados de la prueba.

Tabla 7.4. Resultados de la prueba t para los distintos métodos ensayados.

Pareja de muestras	N	X	SD	EE _{Med}	t	P	IC 95%
CA vs. 3M-3500	82	0,53	23,80	2,63	0,2	0,841	-4,70 . 5,76
CA vs. ATD	78	1,83	23,14	2,62	0,70	0,487	-3,39 . 7,05
3M-3500 vs. ATD	93	3,09	23,45	2,43	1,27	0,206	-1,73 . 7,92

N número de muestras
 X valor medio de las diferencias en valor absoluto
 SD desviación estándar
 EE_{Med} error estándar de la media
 t valor de t obtenido
 p valor de probabilidad obtenido
 IC 95% límites de confianza al 95%

En la figura 7.3 se representa, para la combinación muestreo dinámico frente a 3M-3500, en el eje de abscisas la media de concentración obtenida por ambos métodos para cada par de resultados y en el eje de ordenadas la diferencia de concentración obtenida por ambos métodos para cada par. Así mismo, se representan tres líneas horizontales que corresponden al valor medio de todas las diferencias (línea continua) y los límites de confianza al 95% para esta media (líneas discontinuas). Las figuras 7.4 y 7.5 son representaciones semejantes a la de la figura 7.3 para las combinaciones dinámico vs. ATD50 y 3M vs. ATD50.

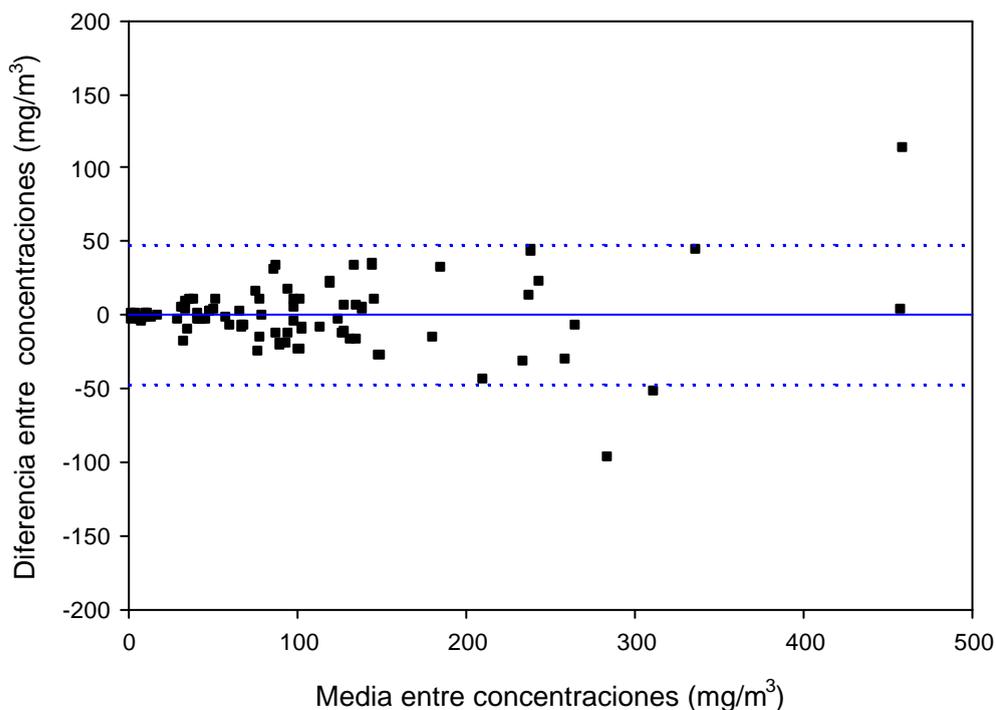


Figura 7.3 Representación de los resultados medios de concentración frente a las diferencias de concentración para cada pareja de datos muestreo dinámico y 3M-3500.

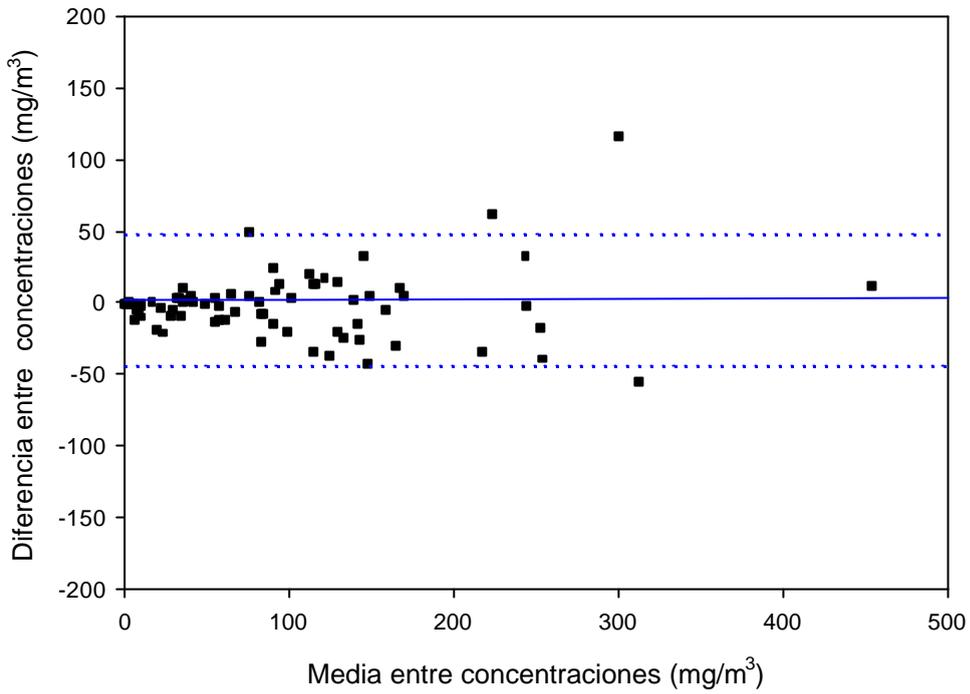


Figura 7.4 Representación de los resultados medios de concentración frente a las diferencias de concentración para cada pareja de datos muestreo dinámico y ATD50.

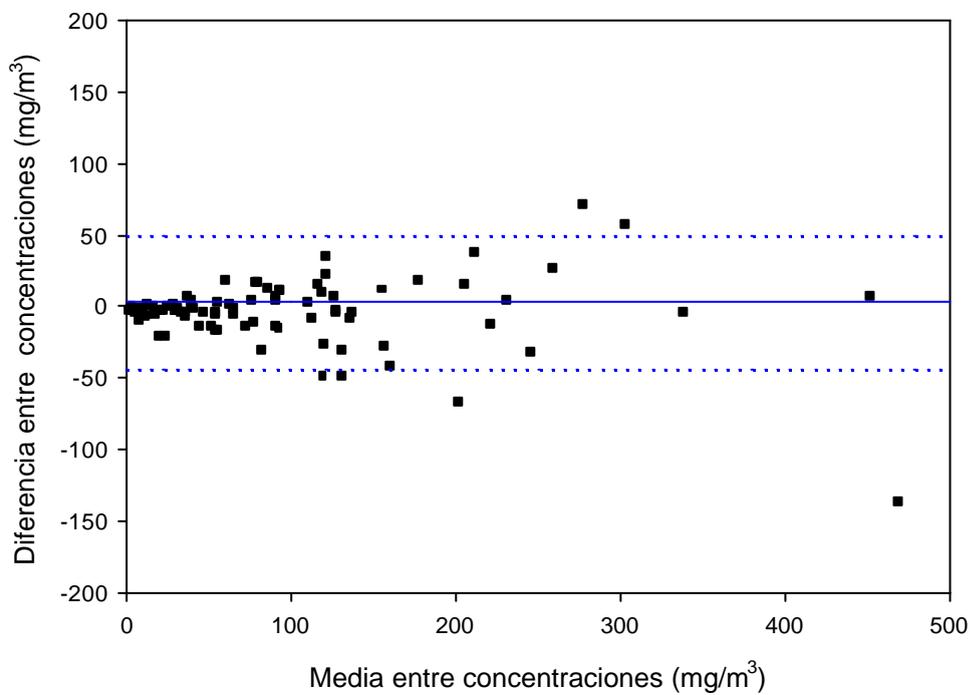


Figura 7.5 Representación de los resultados medios de concentración frente a las diferencias de concentración para cada pareja de datos 3M-3500 y ATD50.

Como se puede apreciar en las tres figuras, la mayoría de los resultados obtenidos queda entre los límites de confianza del 95%. Estos resultados, junto con los mostrados en la Tabla 7.4, permiten concluir que en los tres casos se puede aceptar la hipótesis de que no existen diferencias significativas entre las concentraciones encontradas por cada uno de los métodos de muestreo.

Se ha realizado la *prueba de rangos y signos de Wilcoxon* a las tres posibles combinaciones, dinámico vs. 3M-3500, dinámico vs. ATD50 y 3M-3500 vs. ATD50. El valor de *p* crítico en todos los casos, teniendo en cuenta el número de parejas de datos ($n > 50$), para un límite de confianza del 95% es de 0,05. En la Tabla 7.5 se muestran los resultados de la prueba. En este caso la hipótesis nula se acepta cuando el valor de *p* obtenido supere el valor de *p* crítico lo cual sucedió en todos los casos.

Tabla 7.5. Resultados de la prueba de rangos y signos de Wilcoxon para los distintos métodos ensayados.

Pareja de muestras	N	M	Inf	Sup	P
CA vs. 3M-3500	82	0,195	40,69	42,35	0,974
CA vs. ATD	78	1,28	38,25	40,37	0,116
3M-3500 vs. ATD	93	2,15	44,41	51,50	0,096

N número de muestras

M mediana de las diferencias en valor absoluto

Inf promedio de los rangos de los valores situados por debajo de la mediana

Sup promedio de los rangos de los valores situados por encima de la mediana

p valor de probabilidad obtenido

Los resultados obtenidos, en cuanto a la concordancia entre muestreadores activos y pasivos, son similares a los encontrados por otros autores (10,12-16). La mayor parte de estos trabajos se ha realizado sobre muestreadores 3M-3500 o de diseño semejante, es decir, basados en el empleo de una lámina de carbón activo como superficie adsorbente y con áreas de difusión relativamente grandes.

Estos muestreadores pasivos son igual de eficaces que los dinámicos para compuestos no polares como benceno, tolueno o estireno. Recientemente

incluso se ha descrito la utilidad de estos muestreadores, mediante estudios en campo, para la recogida de compuestos polares como el 2metoxietanol en ambientes con elevada humedad (23).

El empleo de muestreadores difusivos para desorción térmica ha generado una mayor controversia debido a que su geometría es menos favorable para el proceso de la difusión. Hay varios trabajos en los que se estudian estos muestreadores de forma teórica calculando la velocidad de captación para diversos contaminantes (24-29), sin embargo son muy escasos los trabajos que se dedican a la comparación en campo de este muestreador con el activo (11). Los resultados que se han obtenido en este estudio referentes al muestreador pasivo ATD50 para desorción térmica ponen de manifiesto que, este muestreador es igual de eficaz que los sistemas activos y los sistemas pasivos para desorción con disolvente.

Por otro lado, algunos autores han observado mayor discrepancia en los resultados obtenidos mediante muestreo pasivo y dinámico (10,23) cuando los disolventes se encuentran a baja concentración en el ambiente. Para comprobar si esto sucedió en este caso, en las figuras 7.6 y 7.7 se representaron los errores relativos para cada par de resultados frente a la concentración media entre las parejas muestreo dinámico vs. muestreo pasivo con 3M-3500 y muestreo dinámico vs. muestreo pasivo con ATD50 respectivamente. Como se aprecia en ambas figuras, estos errores relativos son también mayores a bajas concentraciones. Sin embargo, sucede lo mismo cuando se hace la representación para la pareja muestreo pasivo con ATD50 vs. muestreo pasivo con 3M-3500 como se puede apreciar en la figura 7.8, lo que induce a pensar que los errores se puedan deber a una mayor influencia a estos niveles de concentración de los errores asociados con los métodos, con independencia del tipo de muestreador.

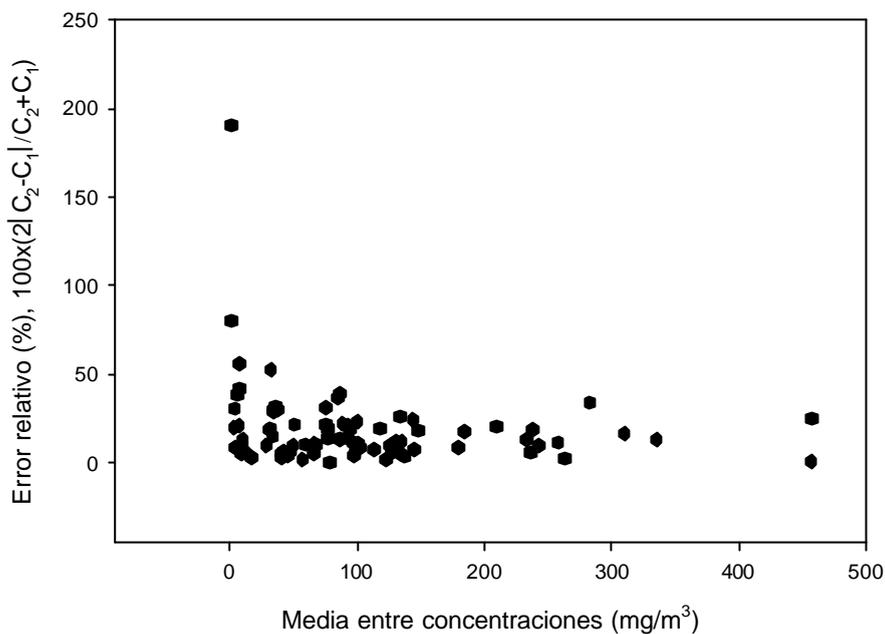


Figura 7.6 Representación de los errores relativos entre cada pareja de valores de concentración de estireno, C_1 y C_2 , obtenidas con el muestreador dinámico y el muestreador 3M-3500 respectivamente, respecto al valor medio de ambas concentraciones.

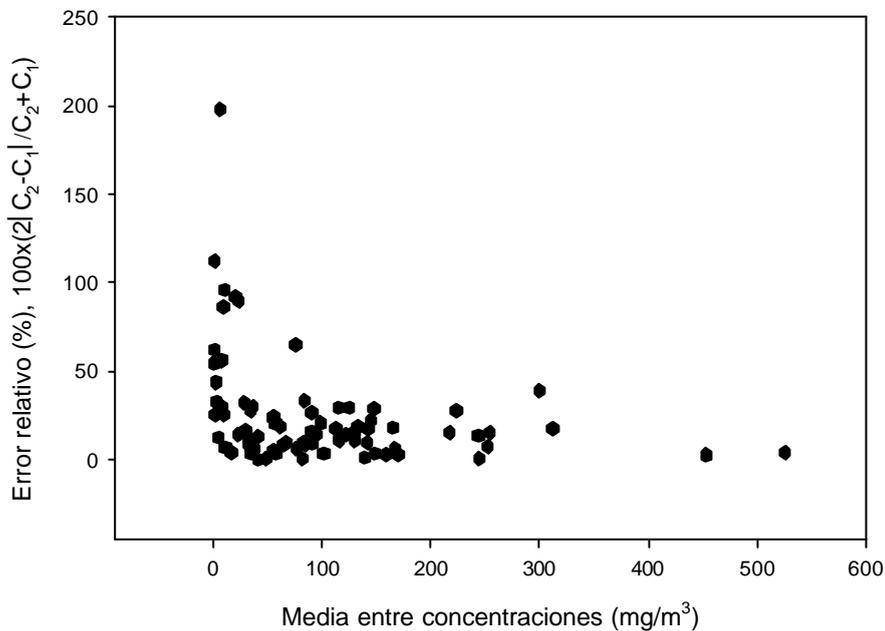


Figura 7.7 Representación de los errores relativos entre cada pareja de valores de concentración de estireno, C_1 y C_2 , obtenidas con el muestreador dinámico y el muestreador ATD50 respectivamente, respecto al valor medio de ambas concentraciones.

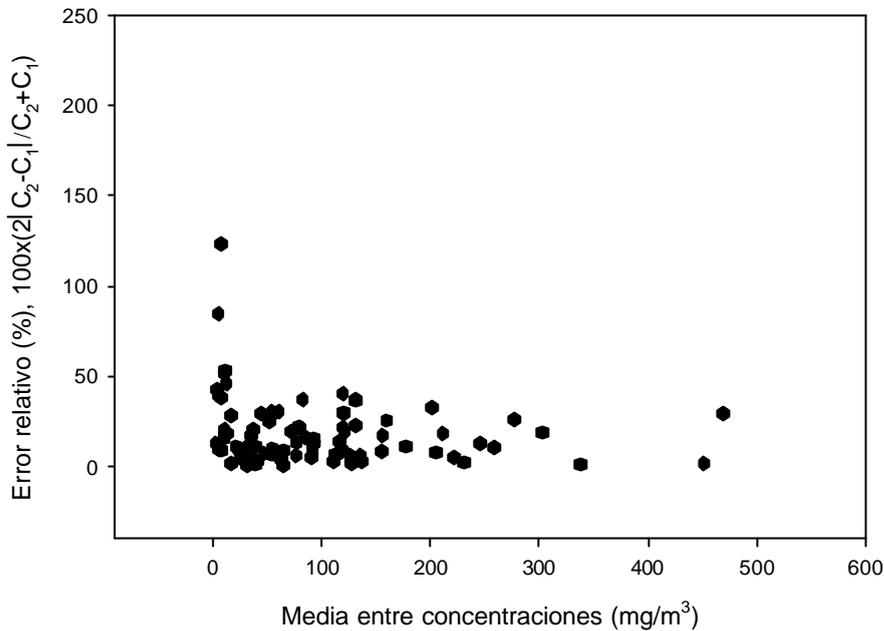


Figura 7.8 Representación de los errores relativos entre cada pareja de valores de concentración de estireno, C_1 y C_2 , obtenidas con el muestreador 3M-3500 y el muestreador ATD50 respectivamente, respecto al valor medio de ambas concentraciones.

Los muestreadores pasivos presentan ventajas sobre el muestreo activo tradicional, ya que son sencillos de usar sobre todo cuando se realiza la toma de muestra a varios trabajadores a la vez, porque lleva poco tiempo colocarlos y son mejor aceptados debido a su reducido tamaño y peso y a la ausencia de ruido. Por último, aunque no menos importante, eliminan los problemas de mantenimiento y calibración asociados con el empleo de bombas.

El empleo de muestreadores pasivos resulta más económico que el de los activos por dos razones, primero porque su uso reduce de forma significativa el tiempo dedicado por el personal técnico a la preparación y la toma de muestras y segundo, debido al menor coste del instrumental necesario respecto al sistema activo (bombas, baterías, sistemas para la calibración, etc.) (30).

Por otra parte, los muestreadores basados en adsorbentes que se puedan desorber térmicamente, requieren para su análisis de instrumental más sofisticado pero por el contrario, pueden ser utilizados en sucesivas ocasiones, siempre que se asegure la total desorción del agente recogido.

Puede concluirse, por tanto, que con los dos muestreadores pasivos se obtienen resultados que no difieren significativamente de los obtenidos con el

muestreo activo, por lo que cualquiera de ellos puede utilizarse para evaluar la exposición de los trabajadores a estireno.

Las velocidades de captación (28,12 ml/min para 3M-3500 y 0,54 ml/min para el ATD50 Tenax TA) son válidas para todo el periodo de toma de muestra, no afectando las variaciones en la concentración del contaminante que tienen lugar durante el mismo. Por tanto, ambos muestreadores permiten conocer la concentración media existente durante el periodo de toma de muestra.

7.4 Bibliografía

- 1 Moore G. Diffusive sampling- a review of theoretical aspects and state of the art. *En Berlin A., Brown R.H., Saunders K.J., (ed.) Diffusive sampling. An alternative approach to workplace air monitoring. Royal Society of Chemistry, London 1-13. 1987.*
- 2 Palmes D.E., Gunisson A.F. Personal monitoring devices for gaseous contaminants. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 34: 78-81. 1973.*
- 3 González E., Periago J.F. Estudio teórico y experimental de sistemas de captación por difusión. *Actas del IX Congreso Nacional de Medicina, Higiene y Seguridad en el Trabajo. Palma de Mallorca 397-406. 1980.*
- 4 Rose V., Perkins J.L. Passive dosimetry-state of the art. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 43: 605-621. 1982.*
- 5 Periago J.F., González E. Estudio del mecanismo de difusión aplicado a la captación de contaminantes ambientales a concentraciones variables. *Actas del IX Congreso Nacional de Medicina, Higiene y Seguridad en el Trabajo. Palma de Mallorca 441-450. 1980.*
- 6 Periago J.F. Estudio experimental de monitores pasivos en atmósferas controladas de disolventes. *Actas del X Congreso Nacional de Medicina, Higiene y Seguridad en el Trabajo. Granada 301-312. 1984.*
- 7 Bertrand R., Berthier P. Use of passive sampler for monitoring vapours from a composite solvent in workplace air. *En Berlin A., Brown R.H., Saunders K.J., (ed.) Diffusive sampling. An alternative approach to workplace air monitoring. Royal Society of Chemistry, London 67-70. 1987.*
- 8 Pozzoli L., Cottica D. An overview of the effects of temperature, pressure, humidity, storage, and face velocity *En Berlin A., Brown R.H., Saunders K.J., (ed.) Diffusive sampling. An alternative approach to workplace air monitoring. Royal Society of Chemistry, London 119-130. 1987.*
- 9 Periago J.F., Uribe B. Interlaboratory comparison of diffusive samplers for organic vapour monitoring in workplace air. *En Brown R.H., Curtis M., Saunders K.J.,*

- Vandendriessche S. (ed.) *Clean Air at work. Commission of the European Communities, Luxemburgo 452-456.* 1992.
- 10 Bartolucci G.B., Perbellini L., Gori G.P., Brugnone F., Chiesura Corona P., De Rosa E. Occupational exposure to solvents: field comparison of active and passive samplers and biological monitoring of exposed workers. *Ann. Occup. Hyg.* 30(3): 295-306. 1986.
 - 11 Brown R.H., Saunders K.J., Walkin K.T. A Personal sampling method for the determination of styrene exposure. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 48(9): 760-765. 1987.
 - 12 Bartolucci G.B., Perbellini L., Gori G.P., Brugnone F., De Rosa E. Field comparison of charcoal tubes and passive dosimeters for the determination of solvents in air. *En Berlin A., Brown R.H., Saunders K.J., (ed.) Diffusive sampling. An alternative approach to workplace air monitoring. Royal Society of Chemistry, London 228-230.* 1987.
 - 13 Hagberg S., Nordlinder R., Sällsten G. Field comparison of charcoal tubes and passive vapour monitors for organic vapours. *En Berlin A., Brown R.H., Saunders K.J., (ed.) Diffusive sampling. An alternative approach to workplace air monitoring. Royal Society of Chemistry, London 242-245.* 1987.
 - 14 Saarinen L., Rothberg M., Bäck B. Comparison of diffusive samplers and charcoal tube method under field conditions. *En Berlin A., Brown R.H., Saunders K.J., (ed.) Diffusive sampling. An alternative approach to workplace air monitoring. Royal Society of Chemistry, London 259-261.* 1987.
 - 15 Periago J.F., Morente A. Estudio comparativo de muestreadores pasivos y activos en atmósferas laborales. *Actas del XI Congreso Nacional de Medicina, Higiene y Seguridad en el Trabajo. Madrid 1987b; 73-79.* 1987.
 - 16 Periago J.F. Field comparison of charcoal tubes and diffusive samplers for determination of n-hexane and toluene in air. *The Diffusive Monitor.* 1989.
 - 17 Coutant R.W., Lewis R.G., Mulik J.D. Modification and evaluation of a thermally desorbable passive sampler for volatile organic compounds in air. *Anal. Chem.* 58(2): 445-448. 1986.
 - 18 I.N.S.H.T. Protocolo de validación de muestreadores pasivos por difusión. *INSHT, Barcelona MTA/PV-II/90.* 1991.
 - 19 Norma UNE-EN 838: Atmósferas en el lugar de trabajo. Muestreadores pasivos por difusión para la determinación de gases y vapores. Requisitos y métodos de ensayo. 1995.
 - 20 Firth J.G. HSE Protocol for assessing performance. *En Berlin A., Brown R.H., Saunders K.J., (ed.) Diffusive sampling. An alternative approach to workplace air monitoring. Royal Society of Chemistry, London 177-184.* 1987.
 - 21 I.N.S.H.T. Determinación de vapores orgánicos en aire - Método de adsorción en carbón activo / Cromatografía de gases. *INSHT, Barcelona MTA/MA-032/A98.* 1998.
 - 22 Miller y Miller. Estadística para Química Analítica. *Addison-Wesley Iberoamerican, S.A.* 1993.

- 23 Shih T.S., Chen C.Y., Cheng R.I., Wu L.J. Field evaluation of a passive sampler for the exposure assesment of 2-methoxyethanol. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 73: 98-104. 2000.
- 24 Rosmanith P. Determination of some uptake rates – Perkin-Elmer ATD 50 diffusive sampling. En Berlin A., Brown R.H., Saunders K.J., (ed.) *Diffusive sampling. An alternative approach to workplace air monitoring. Royal Society of Chemistry, London* 161-162. 1987.
- 25 Broadway G.M. Diffusion Tube to Data Recording: A complete system for personal monitoring. En Berlin A., Brown R.H., Saunders K.J., (ed.) *Diffusive sampling. An alternative approach to workplace air monitoring. Royal Society of Chemistry, London* 351-356. 1987.
- 26 De Bortoli M., Knöppel H., Pecchio E., Vissers H. Laboratory testing of a thermally desorbable passive sampler for volatile organic compounds in indoor air. En Berlin A., Brown R.H., Saunders K.J., (ed.) *Diffusive sampling. An alternative approach to workplace air monitoring. Royal Society of Chemistry, London* 375-378. 1987.
- 27 Gentry S.J., Walsh P.T. A diffusive sampler – stain exposure monitor. En Berlin A., Brown R.H., Saunders K.J., (ed.) *Diffusive sampling. An alternative approach to workplace air monitoring. Royal Society of Chemistry, London* 379-382. 1987.
- 28 Kristensson J., Widen M. Development and evaluation of a diffusive sampler for measurements of anaesthetic gases. En Berlin A., Brown R.H., Saunders K.J., (ed.) *Diffusive sampling. An alternative approach to workplace air monitoring. Royal Society of Chemistry, London* 423-426. 1987.
- 29 Prado C., Periago J.F., Ibarra I., Tortosa J.A. Evaluation of isoflurane in air by thermal desorption-gas chromatography. *J. Chromatogr. A* 657: 131-137. 1993.
- 30 Nothstein G.L., Hahne R.M.A., Spence M.W. Evaluation of the cost-effectiveness of various passive monitors and active monitors for industrial hygiene sampling. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 61: 64-68. 2000.

8

CONTROL
AMBIENTAL
Y BIOLÓGICO
DE UNA POBLACIÓN
OCUPACIONALMENTE
EXPUESTA
A
ESTIRENO

8 CONTROL AMBIENTAL Y BIOLÓGICO DE UNA POBLACIÓN LABORALMENTE EXPUESTA A ESTIRENO

8.1 Introducción

La exposición laboral a estireno más importante se produce en la fabricación de artículos de plástico reforzado con fibra de vidrio, estos productos plásticos se obtienen empleando resinas de poliéster insaturadas comerciales que contienen hasta un 40% de estireno monómero. Aproximadamente el 10% del estireno se evapora al ambiente del lugar de trabajo en las operaciones de laminación manual o mediante proyección (1,2) pudiendo, por tanto, entrar al organismo humano principalmente a través de la vía respiratoria (3).

La exposición a estireno se ha asociado con distintos efectos sobre la salud, sobre todo debido a su potencial carcinogenicidad (4-6). La Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC), clasifica al estireno como posible carcinógeno (7) ya que los estudios epidemiológicos llevados a cabo hasta la fecha no encuentran evidencias firmes de que el estireno sea cancerígeno (8). Sin embargo, estudios recientes asocian la exposición laboral a estireno con la aparición de daños cromosómicos (9,10).

Durante varias décadas, la determinación de la exposición a un contaminante químico en el lugar de trabajo se basó exclusivamente en el control ambiental. Esta forma de control no asegura que el trabajador se encuentre totalmente protegido frente a los efectos adversos para la salud derivados de la exposición a un agente químico. Por ello, se ha desarrollado otra técnica complementaria, el control biológico.

Ambos procedimientos son herramientas útiles para evaluar la exposición, la diferencia entre ambas, y lo que las hace complementarias, es que el control biológico es un indicador de la dosis interna y el ambiental lo es de la dosis externa (11).

El control biológico, además de evaluar el riesgo para los trabajadores expuestos, permite verificar la utilidad de las técnicas de reducción de la exposición y las estrategias de intervención adoptadas (12) e incluso aporta información sobre la calidad de los métodos higiénicos empleados en una empresa o sobre la eficacia de los métodos de control de la exposición. Por

ejemplo, puede ser una buena herramienta para comprobar la eficacia de los equipos de protección individual (6,13-15).

La vía de de entrada más importante del estireno al organismo desde el ambiente laboral es la inhalatoria (3,16-18), la entrada por contacto con la piel es despreciable salvo si se produce un contacto prolongado entre el estireno líquido y la piel (19).

La principal vía de metabolización es la oxidación de estireno a peróxido de estireno por las enzimas del citocromo hepático P-450. El peróxido de estireno se hidroliza para formar un glicol, que posteriormente se oxida para formar el ácido mandélico y luego el ácido fenilgloxílico.

Aproximadamente el 95% del estireno absorbido en los pulmones sigue el proceso de metabolización descrito y se excreta por vía urinaria siendo el ácido mandélico el mayoritario, el 85% del estireno absorbido se excreta como tal, seguido por el ácido fenilgloxílico, 10% (20). La eliminación del estireno a través de los pulmones es inferior al 3% (21,22) y por último una pequeña cantidad de estireno se elimina en otros fluidos como orina o sudor (23).

Para el control biológico de la exposición a estireno se han realizado numerosos estudios, así podemos encontrar estudios basados en la medida de la concentración de estireno en sangre (24-29), en orina (23,26,27,29-33) y en aire exhalado (24,29,34,35). También hay estudios centrados en la determinación de los metabolitos de estireno en orina, el ácido mandélico (MA) y el ácido fenilgloxílico (PGA) (36-41). Rara vez se han determinado el ácido p-hidroximandélico (PHMA) (42) o los ácidos mercaptúricos (43).

En el control biológico, siempre aparecen diferencias intraindividuales o interindividuales en la concentración del indicador elegido, aún cuando los individuos estén sujetos a las mismas condiciones de exposición. Estas diferencias surgen como consecuencia de la variación en la ventilación pulmonar hemodinámica, el ejercicio físico, la eficacia de los órganos excretores y la actividad de los sistemas enzimáticos, que mediatizan el metabolismo y la eliminación del compuesto químico.

Cualquier forma de control, ambiental o biológico, necesita valores de referencia con los que poder comparar la situación particular que se estudia en cada momento.

En 1999, el INSHT estableció para estireno un valor límite ambiental de exposición diaria (VLA-ED), 8 horas diarias durante 5 días a la semana, de 86 mg/m³ (44). Desde mayo del año 2001 en que se publicó el RD 374/2001 dicho VLA-ED es el valor límite aplicable en el estado español. La American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH, EEUU), cuyos valores de referencia han sido los utilizados en España como valores guía, adoptó en 1997 para el estireno un valor límite ambiental de 85 mg/m³. Este valor representa una drástica reducción respecto al anterior de 213 mg/m³. Dicha reducción se basa en la hipótesis de que este último no fuera suficiente para proteger la salud de los trabajadores (45). Otros países, como Holanda o Noruega, ya en 1989 habían situado el valor límite en 105 mg/m³, ante la evidencia de que, a concentraciones próximas a 213 mg/m³, el estireno podía afectar al sistema nervioso central (46,47).

En España desde el presente año existe un valor de referencia biológico para la suma de la concentración de los metabolitos principales de estireno (MA+PGA), determinada en la orina del final de la jornada de trabajo del último día de la semana, de 600 mg/gr creatinina (48). Aunque los índices biológicos de referencia establecidos actualmente se basan en la determinación de los metabolitos MA y PGA y de estireno en sangre, algunos investigadores han propuesto en los últimos años que los niveles de estireno en aire exhalado (25,35) o de estireno en orina (23,30,32,33) pueden llegar a ser buenos indicadores. En 1982, la ACGIH nombró un comité para elaborar y desarrollar documentación y recomendaciones para el establecimiento de índices biológicos de referencia (BEI's), estos índices biológicos debían estar directamente relacionados con los valores TLV-TWA o con la dosis externa recibida siempre que el trabajador estuviese haciendo un trabajo moderado (11). Aunque, como ya se ha dicho, en 1997 la ACGIH revisó el TLV-TWA de estireno, sus valores biológicos de referencia (BEI's) siguen correspondiéndose con el anterior límite ambiental (49). Por último, la conclusión principal del estudio europeo sobre los efectos carcinógenos del estireno desarrollado en 1989 fue que se debían elaborar métodos analíticos para encontrar marcadores biológicos de exposición a estireno (50).

Este capítulo se centra en la evaluación de la exposición de una población laboralmente expuesta compuesta por 115 trabajadores de distintas industrias dedicadas a la fabricación de objetos de plástico reforzado con fibra de vidrio mediante control ambiental y biológico. Se pretenden evaluar los niveles de concentración de estireno en el ambiente de trabajo por medio del muestreo

personal de los sujetos expuestos. Además se han elegido los especímenes biológicos, estireno en aire exhalado, estireno en orina y los metabolitos mayoritarios de estireno en orina, ácido mandélico (MA) y ácido fenilglioxílico (PGA) para evaluar la dosis interna recibida por los trabajadores. No se ha utilizado la toma de muestras de sangre por tratarse de una técnica invasiva y ser peor aceptada por los trabajadores.

Mediante el trabajo que se desarrollará en este capítulo se pretende lograr una serie de objetivos enfocados hacia el conocimiento y evaluación de la exposición a estireno en determinadas tareas industriales, tanto desde el punto de vista ambiental como desde el punto de vista biológico, así como su control. Para ello, se abordará la estimación de la dosis externa de una población laboralmente expuesta mediante la determinación de los niveles de concentración ambiental, utilizando los procedimientos de toma de muestra previamente validados. Simultáneamente se estimarán los niveles de dosis interna mediante la determinación de los indicadores biológicos anteriormente citados en orina y aire exhalado, mediante los procedimientos de toma de muestra y análisis validados anteriormente.

Otro de los objetivos de este capítulo es estudiar detalladamente la posible relación existente entre los niveles de dosis externa e interna, así como su estudio crítico en relación con otros trabajos experimentales, con objeto de abordar la posibilidad de utilizar dicha relación para la propuesta de valores límites biológicos, correspondientes a dosis externas equivalentes a exposiciones durante 8 horas al valor límite ambiental vigente en España. Esta propuesta de valores límite, que se realizará para todos los indicadores biológicos estudiados, tiene especial importancia para aquellos que actualmente no tienen fijado límite.

Finalmente, se pretende analizar la aplicación de estos valores límite biológicos a las exposiciones laborales de duración inferior a la jornada laboral, que son cada vez más frecuentes en las nuevas formas de organización del trabajo, sobre todo en pequeñas y medianas empresas.

8.2 Población laboral expuesta, toma de muestras y métodos analíticos

8.2.1 Población laboral expuesta

Se ha llevado a cabo un estudio en 18 empresas de la región de Murcia dedicadas a la fabricación de productos de plástico reforzado con fibra de vidrio de tamaño y utilidad variados, desde embarcaciones de recreo hasta pequeños accesorios, como cascos o varillas para estores. Las empresas visitadas eran de pequeño tamaño y por tanto el número de trabajadores en cualquiera de ellas no fue muy elevado. En el estudio han participado 115 personas expuestas a estireno en su trabajo, de las cuales 10 emplearon medios de protección respiratoria. Para cada sujeto expuesto se recogió información acerca de su edad, peso, altura, hábitos de consumo (alcohol o tabaco), antigüedad y tarea realizada tanto el día de muestreo como el anterior. La información general sobre la población estudiada se muestra en la Tabla 8.1

Tabla 8.1 Datos de la población expuesta.

Dato estadístico	Edad (años)	Antigüedad (años)	Peso (Kg)	Estatura (cm)
Media aritmética	31	6	72	172
Mediana	29	5	72	170
Máximo	64	25	100	192
Mínimo	16	0	53	153
Media geométrica	29	3	72	172
Desviación estándar	10	6	11	7

8.2.2 Toma de muestras

Muestras ambientales

Se ha medido la exposición ambiental a estireno de cada individuo utilizando simultáneamente tres muestreadores diferentes que se colocaron siempre lo más juntos posible en la solapa de la chaqueta o camisa de cada trabajador.

Los muestreadores utilizados fueron el sistema de muestreo dinámico basado en el empleo de un tubo de vidrio relleno de carbón activo (SKC) unido a una bomba de aspiración (SKC) que se describió en el capítulo 3; el muestreador pasivo 3M-3500 (3M) que emplea como agente adsorbente una lámina de carbón activo, descrito también en el capítulo 3 y el tubo de acero inoxidable

para el sistema de desorción térmica ATD50 (Perkin-Elmer) relleno con 150 mg de Tenax TA (SKC) descrito en el capítulo 4.

La toma de muestras se realizó siempre en jueves ya que, en la mayoría de las empresas estudiadas, éste es el último día de la semana en que se maneja el estireno, dedicándose el viernes a labores de mantenimiento y preparación de material para la semana siguiente; por tanto, el muestreo en viernes no daría un resultado comparable con el resto de los días de la semana respecto a la cantidad de estireno manejado ni en cuanto a la exposición.

La toma de muestras siempre se llevaba a cabo de modo que se abarcara la tarea de laminación en la que cabía esperar una mayor exposición. El tiempo empleado en el muestreo osciló entre 88 y 315 minutos siendo el término medio, para las 115 muestras tomadas, de 3,5 horas.

Muestras biológicas

Muestras de orina

El mismo día de la toma de muestra ambiental y antes de comenzar la jornada de trabajo, se recogió una muestra de orina de cada trabajador. Al finalizar la exposición se recogió una nueva muestra.

Las muestras se recogieron en recipientes de vidrio y se mantuvieron refrigeradas hasta su llegada al laboratorio. Una vez en el mismo se trasvasaron a viales de vidrio de 10 ml que se llenaron completamente y se sellaron con septum de butilo y cápsulas de aluminio.

En cada muestra de orina recogida se midió la concentración de creatinina presente y su densidad. La determinación de la creatinina, que se llevó a cabo en un analizador automático Ciba-Corning 550 Express, está basada en la reacción de Jaffé, que consiste en la reacción de la creatinina en medio alcalino con el ácido pícrico para formar un compuesto coloreado, que se determina espectrofotométricamente a 520 nm. La densidad se determinó mediante un refractómetro modelo Uricon N (ATAGO).

Los mecanismos de excreción de los determinantes pueden alterarse cuando la muestra de orina está muy concentrada (densidad > 1,03 o creatinina >3g/L) o diluida (densidad <1,01 o creatinina <0,5 g/L) y si esto sucede debe rechazarse (51). Todas las muestras analizadas en este trabajo se encontraban dentro de los rangos tolerados.

Muestras de aire exhalado

El sistema de captación de aire exhalado, que se ha descrito ya en el capítulo 5, consiste en un tubo de Haldane-Priestley modificado que posibilita que la fracción final del aire exhalado (aire alveolar) quede retenida en el interior de un tubo de aluminio calorifugado. El sistema permite tomar alícuotas de ese aire e impulsarlas posteriormente hacia el interior de un cartucho relleno de adsorbente. Las alícuotas pueden tomarse de una o varias exhalaciones, lo cual permite concentrar la muestra en el adsorbente. Los cartuchos adsorbentes empleados, que consisten en tubos de acero inoxidable de 89 mm de largo y 6,4 mm de diámetro rellenos con 150 mg de Tenax TA, son los adecuados para el sistema de desorción térmica ATD50.

Para la toma de estas muestras cada sujeto realizó dos o tres inspiraciones profundas, a continuación inhalaba y mantenía el aire inhalado durante 10-15 segundos en sus pulmones, para finalmente exhalar lentamente dicho aire a través del tubo de aluminio calorifugado. En las muestras recogidas al inicio de la jornada se tomaron 1,4 litros de aire exhalado procedente de 7 exhalaciones de las que se recogieron 200 ml por exhalación. Al final de la jornada se tomó 1 litro procedente de 5 exhalaciones (200 ml por exhalación) ya que se esperaba una concentración de estireno superior.

Las muestras de aire exhalado se tomaron en un lugar separado de la zona de trabajo.

8.2.3 Métodos analíticos

Determinación de la concentración ambiental de estireno

Una vez en el laboratorio, se realizó la desorción con disulfuro de carbono (PA Merck) del estireno recogido por los muestreadores activos y 3M-3500 y se analizó la masa desorbida utilizando un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard 5890 (Agilent Technologies). Los vapores de estireno recogidos en los tubos de acero inoxidable rellenos de Tenax TA se desorbieron térmicamente utilizando el sistema ATD50, y se inyectaron a través de una línea de transferencia al interior de un cromatógrafo de gases Perkin-Elmer 8700 (Perkin-Elmer). Las condiciones de desorción y análisis se expusieron en la Tabla 7.1.

Determinación de los ácidos mandélico y fenilgloxílico en orina

La determinación de MA y PGA se realizó mediante cromatografía líquida utilizando el método desarrollado por el INSHT (52). Las alícuotas de orina se acidificaron hasta pH=1 con ácido clorhídrico concentrado y se conservaron a 4°C en la nevera hasta el momento de su análisis. Cuando se iban a analizar, se permitió que cada muestra alcanzase la temperatura ambiente, se homogeneizó por agitación y se filtró utilizando un filtro de 0,45 µm y 47 mm de diámetro tipo HAWP (Millipore) para evitar que pasasen sólidos a la columna. Tras la filtración se realizó la determinación empleando un cromatógrafo líquido Hewlett Packard 1050 (Agilent Technologies) en las condiciones analíticas que se muestran en la Tabla 8.2. Las disoluciones patrón para la calibración se prepararon disolviendo cantidades adecuadas de los ácidos mandélico y fenilgloxílico en la mínima cantidad posible de metanol con la ayuda de un baño de ultrasonidos, una vez disuelto, el conjunto se llevó a disolución acuosa. Para la cuantificación se utilizó el valor medio de área de pico correspondiente a 4 inyecciones.

Tabla 8.2 Condiciones para el análisis cromatográfico de los ácidos mandélico y fenilgloxílico.

ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO	
Equipo	Hewlett Packard 1050
Calibración	Disolución patrón acuosa de los ácidos mandélico y fenilgloxílico
Eluyente	Disolución del 5% metanol y 1% ácido acético en agua
Precolumna	De sílice funcionalizada en fase reversa
Columna	C-18 de 10 cm x 4,6 mm, de sílice funcionalizada con octadecilsilano
Volumen de inyección	2 µl
Temperatura	Isoterma, 40°C
Detector	UV-Visible
λ para Ácido Mandélico	225 nm
λ para Ácido Fenilgloxílico	254 nm

Determinación de estireno en orina

Para la cuantificación del estireno en orina se empleó el sistema de purga y trampa que se describió en el apartado 62.1. A cada muestra de 10 ml de orina se le adicionaron 1,5 ml de metanol (PA Merck) para minimizar la formación de espumas. El conjunto se mantuvo a una temperatura de 27°C con la ayuda de un baño termostático y se purgó con He (N55) a un caudal de 45 ml/min durante 11 min. Como trampa se utilizó el tubo estándar de vidrio para el sistema de desorción térmica ATD 50 (89 mm x 6.4 mm OD), empaquetado con 150 mg de Tenax TA (20-40 mallas). Los tubos se incorporaban al sistema utilizando férulas de PTFE con conexiones de tipo Swagelock de 1/4 de pulgada.

A continuación los tubos se cerraron con tapones hasta el análisis mediante desorción térmica-cromatografía de gases. Las condiciones de desorción y análisis se resumen en la Tabla 8.3.

Tabla 8.3 Condiciones experimentales para la desorción y el análisis cromatográfico de los tubos empleados para las muestras de orina y aire exhalado.

TUBOS RELLENOS ATD50	
Adsorbente	Tenax TA
Cantidad	150 mg
CONDICIONES DE DESORCION	
Tipo de desorción	Térmica, dos etapas
Temperatura del horno	200°C
Temperatura de la trampa	-30°C a 300°C
ANALISIS CROMATOGRAFICO	
Equipo	Perkin Elmer 8700
Calibración	Tubos estándar cargados con disoluciones de estireno en metanol o bien con volúmenes de aire de concentración de estireno conocida
Gas portador	N ₂
Columna	Capilar, FFAP
Temperatura	Isoterma, 120°C
Detector	FID (200°C)

Determinación de estireno en aire exhalado

Para la determinación de estireno en las muestras de aire exhalado se siguió el método descrito en el capítulo 5. El análisis del estireno recogido en los cartuchos rellenos de adsorbente se realizó mediante desorción térmica y cromatografía de gases. Las condiciones de desorción y análisis se resumen en la Tabla 8.3.

8.3 Control ambiental de la exposición a estireno

Para cada una de las personas estudiadas se disponía de tres medidas de concentración ambiental muy semejantes entre sí, y dado que el "valor verdadero" de concentración en situaciones de exposición real no se puede conocer, la media aritmética de los mismos es la mejor aproximación al verdadero valor de la concentración ambiental, teniendo en cuenta que, tal como se describió en el capítulo 7, no existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos con los distintos muestreadores. En total se obtuvieron 115 valores medios de concentración siendo el tiempo de muestreo, como término medio, de 3,5 horas (rango 88 - 315 minutos).

Los distintos trabajadores que participaron en el estudio se han clasificado en función de la tarea que realizaban durante su jornada de trabajo. Bajo los epígrafes laminación manual, laminación por proyección o aplicación de "gel-coat" se agrupan los trabajadores que dedicaban prácticamente la totalidad del tiempo a estas tareas, mientras que se ha agrupado en el epígrafe "varias" a aquellas personas que realizaban distintas tareas durante su jornada, incluyendo entre ellas la laminación. Finalmente, en la denominación "otras" se agrupa a los trabajadores que se ocupaban en tareas -como mantenimiento, carpinteros, transporte o acabado- en las que no hay una exposición directa a estireno. La distribución de la población en las distintas tareas se recoge en la figura 8.1.

Como se observa en la figura 8.1, el proceso de laminación más habitual es el manual y a él se dedica la mayoría de los trabajadores (40%), la laminación por proyección ocupó sólo al 3%, un pequeño grupo de los trabajadores estudiados se dedicaba a la aplicación de "gel-coat" (5%) y el resto de trabajadores se dedicaba a la realización de varias tareas (25%) o bien a tareas no relacionadas directamente con el estireno (27%). Esta tendencia ya se detectó en un estudio preliminar realizado en 98 empresas españolas donde más de la mitad de los trabajadores expuestos realizaba la tarea de laminación

manual, junto con la preparación de resinas y tareas auxiliares y el resto de las tareas eran realizadas por un número mucho menor de trabajadores (53). En este caso, sin embargo hay también un elevado porcentaje de trabajadores que se dedican a varias tareas durante su jornada (25%). Hay que tener en cuenta que el número de trabajadores de cada empresa es pequeño, ello hace que en muchas de ellas la organización del trabajo sea de tipo artesanal, es decir, cada trabajador lleva a cabo todas las etapas del proceso de producción.

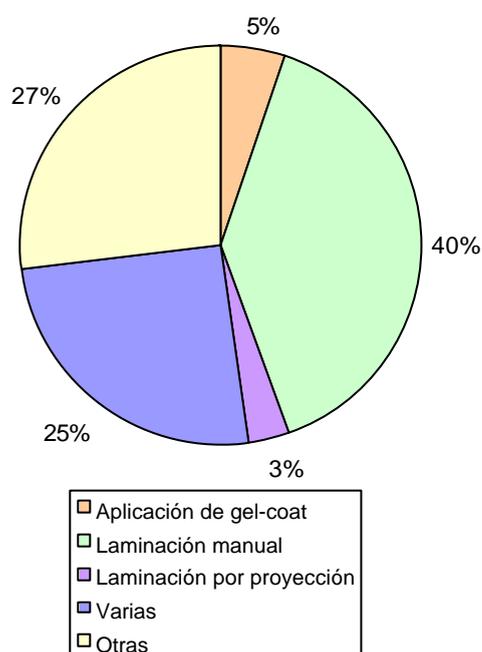


Figura 8.1 Distribución de la población por tareas.

En la Tabla 8.4 se muestran las concentraciones medias de estireno medidas para toda la población estudiada así como para las distintas tareas. Para la población total, la concentración obtenida fue de 91 mg/m³ aunque el rango de valores es muy amplio, entre 1 y 484 mg/m³. Este valor medio es ligeramente superior al valor límite ambiental para estireno que es de 86 mg/m³, estando las concentraciones medidas en el 41% de los puestos de trabajo estudiados por encima de este valor límite. Sin embargo, si tenemos en cuenta el valor límite anterior de 213 mg/m³, sólo en el 10% de los puestos de trabajo las concentraciones alcanzadas estarían por encima del mismo.

Este valor de concentración media es del orden de los encontrados por otros autores en empresas de este tipo y con un número de trabajadores semejante al de las estudiadas aquí (53-55). El valor es incluso inferior a los encontrados en otras empresas, por ejemplo en dos empresas con 11 trabajadores cada una se encontraron concentraciones medias de 120 y 310 mg/m³ (56). También se han encontrado concentraciones medias de 122 mg/m³ al estudiar 30 empresas con diferente número de trabajadores (57). Sin embargo, hay que tener en cuenta que en este último caso el porcentaje de trabajadores ocupados en tareas de laminación era del 70% y en este tipo de tareas, como se verá más adelante, la concentración ambiental de estireno es mayor por lo que contribuyen en mayor medida a la media.

Tabla 8.4 Resultados de concentración ambiental de estireno (mg/m³) para las distintas tareas.

Tarea	Aplicación de gel-coat	Laminación manual	Laminación por proyección	Varias	Otras	Todos
Media	92	137	242	71	22	91
Media geométrica	72	118	234	45	11	49
Valor máximo	159	454	320	484	97	484
Valor mínimo	17	39	167	7	1	1
Desviación estándar	55	81	70	91	23	89
Número de casos	6	45	4	29	31	115

En otros estudios, se ha observado también, que la concentración ambiental de estireno, cuando se realiza una tarea específica como el laminado, no difiere mucho entre empresas grandes y pequeñas (46). Las principales diferencias radican en el tiempo que dedica a estas tareas cada trabajador. En general, cuando las empresas tienen gran número de trabajadores, las concentraciones medias obtenidas pueden ser mucho mayores debido fundamentalmente a que los trabajadores hacen tareas más especializadas, dedicándose, una gran parte de ellos, toda la jornada exclusivamente a la laminación (56).

Resulta por tanto de interés observar los resultados de concentración ambiental obtenidos para las distintas tareas. Como puede observarse en la Tabla 8.4, la realización de la tarea de laminación por proyección genera niveles de estireno muy superiores al resto -242 mg/m³ - mientras que en la laminación manual la concentración es aproximadamente la mitad, de 137 mg/m³. La menor concentración se obtiene cuando los trabajadores realizan varias tareas y en el caso de no realizar tareas directamente relacionadas con el estireno la concentración media es de 22 mg/m³. Este valor, que es aproximadamente del 25 % del valor límite se debe a que los puestos de trabajo no están separados sino que todas las tareas se llevan a cabo en una misma zona.

Estos resultados son comparables a los obtenidos en el estudio preliminar, llevado a cabo en España, que ya se ha mencionado anteriormente (53). También son semejantes a los obtenidos por otros autores (57,58,59) y ponen de manifiesto la especial atención que merecen las tareas de laminación sobre el resto de las que se realizan en este sector industrial (46,53,59,61) debido por un lado a las elevadas concentraciones de estireno que llevan asociadas y por otro, al número de trabajadores que se dedican a ellas.

Como se ha mencionado anteriormente en las empresas de pequeño tamaño, en general, los trabajadores llevan a cabo todas las etapas del proceso de fabricación, desde la preparación del molde hasta el acabado del producto, pasando por supuesto por la laminación. Si se observan los datos de empresas con mayor número de trabajadores, en las que hay una mayor especialización, las personas dedicadas a las tareas de laminación o aplicación de "gel-coat" se encontraron expuestas a concentraciones ambientales más elevadas, 330, 193 y 202 mg/m³ para laminadores, laminadores de pequeñas piezas y personas dedicadas a la aplicación de "gel-coat" respectivamente (59).

Con objeto de conocer si hay otros factores, además de la tarea realizada, de los que pueda depender la concentración ambiental de estireno, se han clasificado los resultados obtenidos en tres categorías dependiendo del tamaño de las piezas que se fabrican. Por un lado, las más grandes como son las embarcaciones y los elementos de carrocería, por otro las piezas de tamaño mediano tales como los depósitos y, finalmente, las piezas pequeñas como cascos, varillas y figuras de decoración. En la figura 8.2 se pueden ver los resultados obtenidos de concentración media de estireno para las tres categorías establecidas.

Las mayores concentraciones ambientales de estireno se encuentran en la fabricación de embarcaciones (media 140 mg/m³ y rango 6 a 484 mg/m³), siendo el doble de las encontradas en la fabricación de piezas medianas (media 73 mg/m³ y rango 2 a 217 mg/m³). Sin embargo, hay que tener en cuenta que el tamaño de las piezas fabricadas y el método principal de producción son variables relacionadas, por ejemplo las piezas pequeñas están fabricadas utilizando moldeado por inyección.

Las concentraciones más elevadas se originan en las proximidades de las fuentes de evaporación de estireno (superficie de laminación y recipiente donde se encuentra la mezcla), de esta forma cuanto más cerca del recipiente que contiene la mezcla o de la superficie de laminación se trabaje mayor será la concentración de estireno a la que se está expuesto (47), por este motivo la evaporación de estireno es mayor en la fabricación de embarcaciones donde

se trabaja con grandes superficies y la cantidad de resina que se utiliza es también mayor.

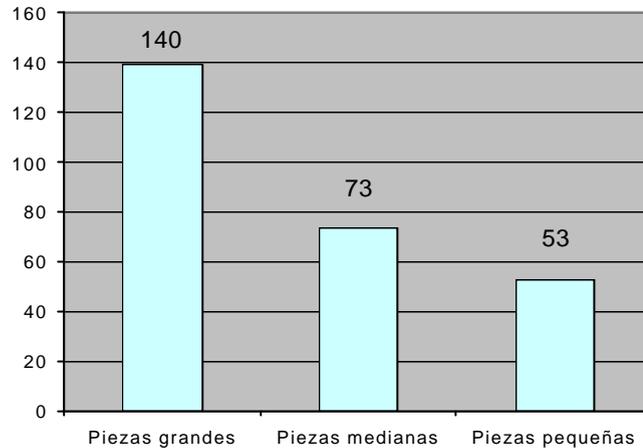


Figura 8.2 Concentraciones medias de estireno (mg/m³) obtenidas según el tamaño de las piezas fabricadas.

En la fabricación de piezas pequeñas el trabajador se acerca rara vez a las fuentes de emisión de estireno, la laminación no se emplea ya que la polimerización se realiza en el interior de un molde cerrado. La fabricación por métodos de moldeado mediante máquinas mejora notablemente la situación higiénica de las personas que trabajan con estireno, pero el desarrollo de estos métodos de moldeado cerrado es tan adecuado en la producción de pequeñas piezas en cadena, como inasequible para la construcción de embarcaciones o depósitos que generalmente se realizan a medida para cada cliente.

En las empresas que participaron en este estudio, el trabajo se organizaba en dos formas distintas. En un grupo de ellas las tareas de laminado se realizaban por la tarde de modo que la etapa de "curado" de las piezas fabricadas tenía lugar por la noche. A la mañana siguiente se desmoldaba y se realizaban las tareas de terminación así como de preparación de las piezas siguientes. En el otro grupo de empresas durante todo el día se realizaban todas las tareas, de modo que la concentración de estireno determinada durante periodos de aproximadamente 3,5 h (tiempo medio de muestreo) es representativa de la concentración de toda la jornada. Para los trabajadores de este último grupo de empresas, 65 individuos, se ha obtenido el valor promediado en el tiempo para toda la jornada de trabajo. El cálculo de la concentración media de exposición para el total de la jornada laboral resulta

útil para situar a esta población frente a los valores de referencia establecidos. La figura 8.3 muestra los distintos valores equivalentes a toda la jornada de trabajo para los 65 trabajadores.

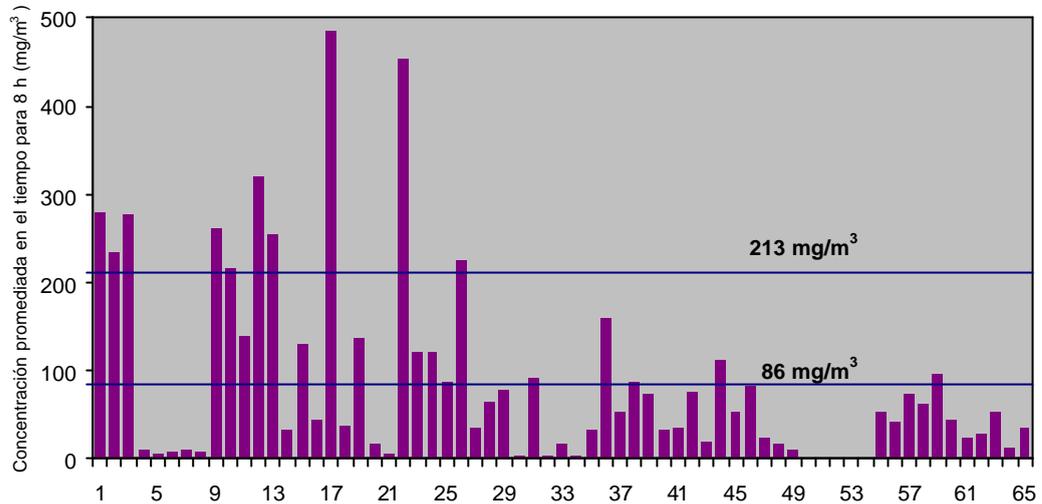


Figura 8.3 Resultados de concentración promediada en el tiempo para 8 horas de exposición para cada uno de los 65 individuos.

En la figura 8.3 se han representado también, dos líneas horizontales correspondientes a los valores límite utilizados en España, el actual VLA-ED (86mg/m³) y el anterior TLV-TWA (213 mg/m³). De esta forma, se puede analizar cual es el efecto de la disminución del valor de referencia. El porcentaje de personas expuestas que superan el nuevo valor límite es del 32% frente al 15% que superaban al anterior (figura 8.4).

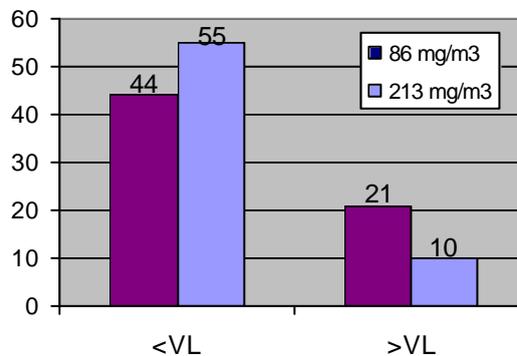


Figura 8.4 Distribución de la población respecto a los dos valores límite ambiental para estireno.

Un estudio más detallado de la distribución de los trabajadores según la concentración de estireno a la que están expuestos respecto al valor de referencia en España (VLA-ED), semejante al actual TLV-TWA se muestra en la figura 8.5. Casi un 50% de la población se encuentra expuesta a niveles de concentración bajos, inferiores a 0,5 veces el VLA. Este valor alcanza el 68% si se considera a todos los expuestos por debajo del VLA, por tanto de acuerdo con la definición del VLA-ED, la mayoría de la población estudiada no debería tener problemas para su salud como consecuencia de la exposición a estireno. El 32% de los trabajadores están expuestos a valores por encima del VLA y de ellos, el grupo expuesto a niveles más elevados, por encima de 2 veces el VLA, es de 10 individuos (15%), 9 de los cuales se dedicaban a tareas de laminación, bien manual, bien por proyección. Las figuras 8.4 y 8.5 reflejan un cambio importante en la valoración de la exposición motivado por el cambio del valor límite, el número de expuestos por encima del VLA pasa a ser más del doble que si se utilizase como referencia el anterior valor TLV-TWA de 213 mg/m³. Estos hechos indican la necesidad de adoptar medidas correctoras que mejoren las condiciones de exposición, sobre todo de aquellos individuos dedicados a las tareas de laminación cuya exposición alcanza frecuentemente niveles superiores al VLA.

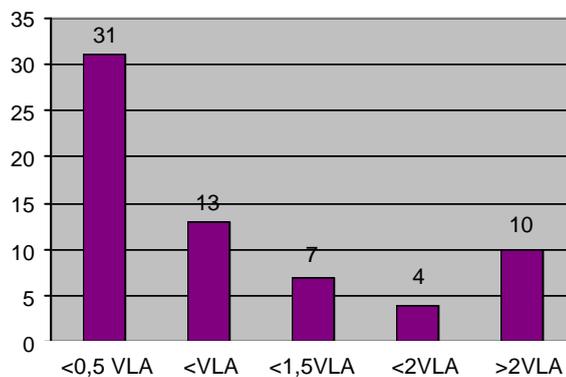


Figura 8.5 Distribución detallada respecto al nuevo valor límite ambiental para estireno.

Debe señalarse que en las empresas estudiadas en ningún caso se observó la presencia de medidas de control tales como extracción localizada o ventilación general, si bien en muchas de ellas los trabajos se realizaban en grandes naves abiertas o bien, en algún caso, en el exterior. En cuanto a los trabajadores sólo 10 de ellos utilizaban equipos de protección personal como

mascarillas. Por tanto una medida que permitiría reducir la concentración de estireno sería la utilización de ventilación general, por dilución, con renovación constante del ambiente utilizando aire "limpio" (59,62); sin embargo, en los casos en que la distancia entre el trabajador y las grandes superficies desde las cuales se evapora el estireno es pequeña, la ventilación general es ineficaz. La utilización de extracción localizada es difícil y el diseño debe adaptarse a cada situación en particular. En el caso de la construcción de embarcaciones se han diseñado algunos sistemas de extracción con objeto de mantener los niveles de concentración por debajo de los límites ambientales (62-64).

El mejor modo de evitar concentraciones de estireno elevadas sería eliminar o disminuir el estireno de la resina, o bien añadir algún aditivo que limite su emisión en la etapa de "curado". En este sentido se están desarrollando resinas de poliéster de baja emisión de estireno (LSE) con cuyo uso se ha descrito que las concentraciones de exposición se pueden reducir hasta en un 90% respecto a las habituales (59). Otra posibilidad para reducir la exposición sería modificando los sistemas de moldeo y recurriendo en la medida de lo posible a sistemas de moldeo cerrado, pero el tamaño de los objetos a fabricar es variable y esta medida sería solo válida para la fabricación de objetos del mismo tamaño y forma.

La utilización de respiradores y máscaras puede ser adecuada en aquellas circunstancias en las que se vaya a laminar mediante proyección o manualmente durante un corto intervalo de tiempo, sin embargo no debe considerarse una medida de protección para usar con continuidad. En un estudio en el que se evalúa la protección que ofrecen las máscaras, mediante la determinación de estireno en orina, se ha observado una gran variación interindividual ya que la reducción estimada de estireno en orina varió entre el 30 y el 90%. Además los resultados que obtuvieron sugieren que la protección disminuye durante la semana (14).

Finalmente, convendría establecer reglas o protocolos sobre "buenas prácticas" en el trabajo a fin de reducir, tanto los tiempos de exposición como las concentraciones a las que se está expuesto (47). Por ejemplo, el proceso de "curado", que no necesita la presencia de trabajadores, se sitúa en general en la misma zona de trabajo que la laminación, sin embargo la separación de este proceso reduciría la exposición. Se ha demostrado también la influencia de la actitud de los trabajadores que han recibido un programa de entrenamiento en la reducción de la exposición a estireno (65).

Con objeto de proteger la salud de los trabajadores de los efectos tóxicos del estireno, las concentraciones de estireno en aire medidas en los lugares de trabajo se han comparado tradicionalmente con los estándares tales como los TLV-TWA o los VLA-ED utilizados en este capítulo. Sin embargo, la utilización de equipos de protección individual, el esfuerzo que requiera el trabajo y las condiciones ambientales de calor y humedad, las diferentes características antropométricas y bioquímicas y factores relacionados con el estilo de vida tales como el consumo de alcohol o el hábito de fumar, influyen en la relación entre la concentración ambiental y la dosis recibida del tóxico (56,66-70). De este modo para una misma concentración ambiental de estireno los factores mencionados contribuyen a que haya una gran variabilidad en la dosis interna para cada individuo.

Los indicadores biológicos de exposición, tales como las concentraciones de metabolitos en orina o los cambios bioquímicos relacionados con ésta tienen en cuenta, generalmente, estas diferencias interindividuales por lo que proporcionan una mejor estimación de la dosis absorbida y por lo tanto, de la dosis toxicológicamente activa.

8.4 Control biológico de la exposición a estireno

El control biológico de la exposición a estireno puede llevarse a cabo mediante la determinación de estireno o de sus metabolitos en muestras de aire exhalado, orina o sangre (17,23).

Como indicadores potenciales de la exposición a estireno se examinan en este trabajo las concentraciones de MA y PGA en orina y la concentración de estireno en aire exhalado y en orina.

Como ya se ha indicado, generalmente la organización del trabajo en las empresas estudiadas, que son de tamaño pequeño, hace que los trabajadores dediquen sólo una parte de la jornada a tareas en las que se produce exposición a estireno, dedicándose el resto del tiempo a desmoldar, lijar, acondicionar, preparar nuevos moldes, etc. El tiempo de exposición es, por tanto, variable. Sin embargo, hay que destacar que el 72% de la población estudiada está expuesto a estireno entre 200 y 280 minutos, siendo la media de 209 minutos y el rango de 88 a 315 minutos (figura 8.6).

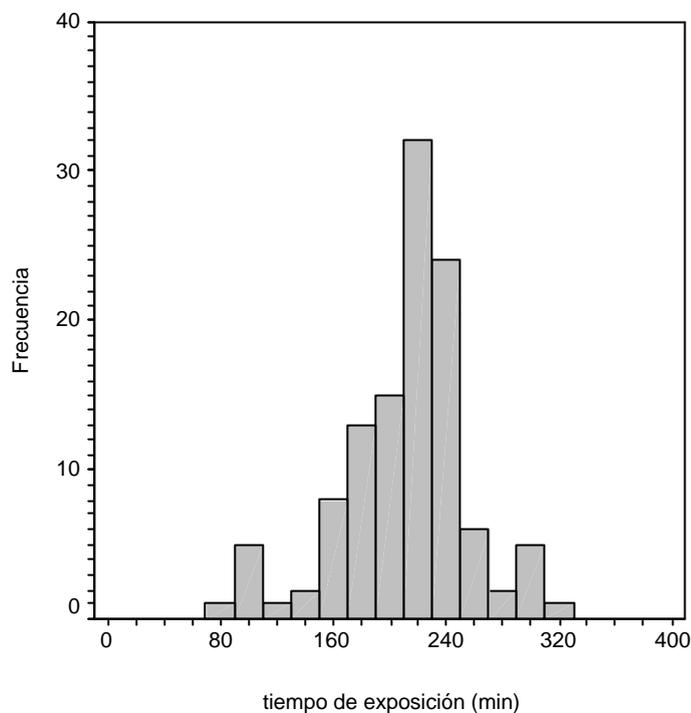


Figura 8.6 Distribución de los tiempos de exposición de los individuos muestreados.

Por los motivos señalados, se ha estimado más conveniente expresar las correlaciones entre el estireno ambiental y el estireno, o sus metabolitos, presente en el organismo en términos de dosis externa. De esta forma, se ha calculado la dosis como el producto de la concentración de estireno en el ambiente a que estaba expuesto cada trabajador, por el tiempo que duró la exposición y durante el cual se estuvo midiendo dicha concentración.

Los valores de dosis obtenidos se encuentran entre $0,18 \times 10^3$ y $116,22 \times 10^3$ $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{min}$ y el valor medio fue de $18,94 \times 10^3$ $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{min}$ con una desviación estándar de $19,93 \times 10^3$.

Un grupo de 10 trabajadores, de los 115 estudiados, empleó protección respiratoria. Dado que la vía inhalatoria es la principal entrada de estireno al organismo, este grupo se consideró en el estudio de distinta forma ya que era de esperar una distinta relación entre la dosis recibida y la dosis interna.

En algunas muestras ambientales se ha determinado también tolueno y acetona, esta última se utiliza normalmente para la limpieza de las herramientas de trabajo; sin embargo, la concentración de acetona determinada ha sido en todos los casos muy inferior a su valor VLA-ED, que es de 1210 mg/m³, siendo el valor medio de 167 mg/m³ (n=72). En el caso del tolueno, que ha aparecido en muchos casos al nivel de traza, las concentraciones ambientales determinadas han sido muy bajas, en el rango de 0,22 a 16,7 mg/m³ con un valor medio de 3,7 mg/m³ (n= 37, VLA-ED 191 mg/m³). Únicamente se han determinado concentraciones ambientales de tolueno elevadas en el caso de seis trabajadores pertenecientes a una empresa que fabricaba objetos de decoración, ya que también se dedicaban a tareas de pintado y este compuesto es un componente mayoritario en los disolventes de pintura.

No se ha demostrado hasta el momento de forma concluyente ninguna interacción de la acetona o del tolueno en la absorción o metabolismo del estireno sobre todo cuando la exposición es baja, como en este caso (3,26,71).

Tampoco se ha encontrado en las muestras ambientales etilbenceno, cuya metabolización también produce MA y PGA.

8.4.1 Ácidos mandélico y fenilglioxílico en orina

El indicador biológico que más ampliamente se ha utilizado para el control biológico de estireno es el ácido mandélico, que es su principal metabolito. El ácido fenilglioxílico también ha sido muy utilizado y son numerosos los trabajos que se han centrado en el estudio de la relación entre estos metabolitos y la concentración de estireno en el ambiente (42,59,61,72-76).

En las figuras 8.7 y 8.8 se muestran las distribuciones de los niveles de concentración de ácido mandélico y fenilglioxílico en orina de los trabajadores estudiados.

El rango de valores obtenido en ambos casos es amplio, lo que es un reflejo de que la dosis recibida se encuentra también en un rango amplio. En el caso del ácido mandélico, que se determinó en 70 muestras, las concentraciones halladas oscilaron entre 17 y 1880 mg/L, siendo la media aritmética de 292 mg/L y la mediana de 150 mg/L. Para el ácido fenilglioxílico, determinado en 89 muestras, la media aritmética de su concentración fue de 156 mg/L, la mediana de 114 y los valores de concentración oscilaron entre 2 y 660 mg/L.

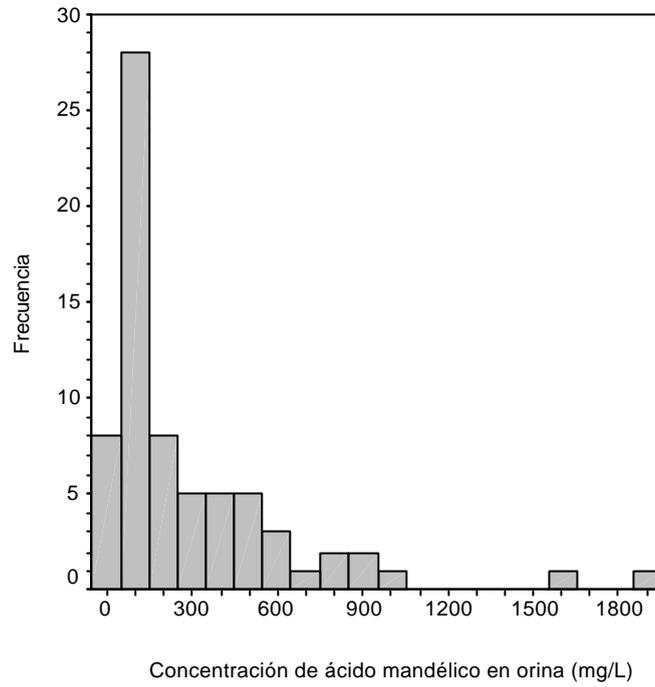


Figura 8.7 Distribución de la concentración de ácido mandélico en orina.

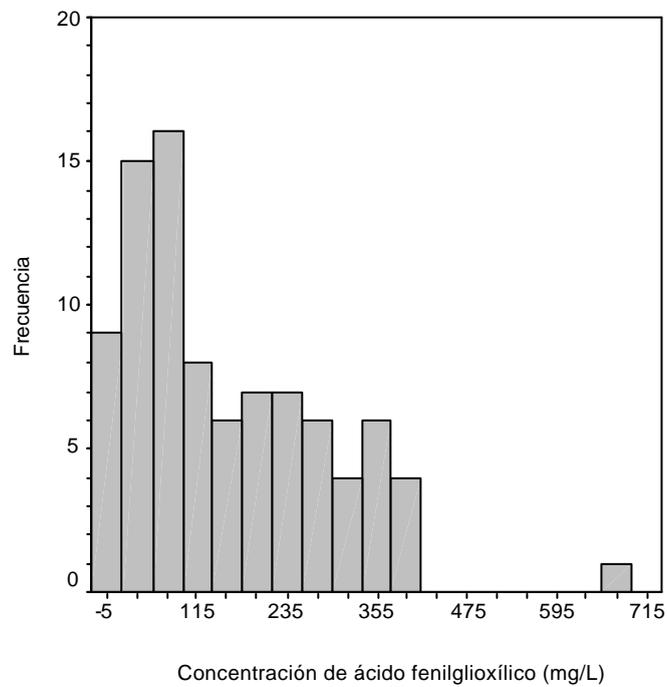


Figura 8.8 Distribución de la concentración de ácido fenilglioxílico en orina.

El volumen de orina excretada varía con la ingesta o con la pérdida de fluidos y con el uso de drogas (medicación, alcohol o cafeína) de efecto diurético. La orina está compuesta por un 90-98% de agua, conteniendo sólidos que consisten en cientos de sustancias orgánicas e inorgánicas presentes en diferentes cantidades. En los adultos, la producción diaria de orina varía entre 600 y 2500 ml (con una media de 1200 ml), y la producción diaria de sólidos varía entre 30 y 70 g (51). La velocidad de excreción de sólidos permanece relativamente constante e independiente del volumen de orina excretado, sin embargo la concentración de los metabolitos variará mucho dependiendo de dicho volumen (51), esto hace que sea conveniente relacionar la medida de los determinantes en este espécimen con la excreción de sólidos. De esta forma se evita que las variaciones en la concentración se deban a los diferentes volúmenes de orina producidos y no a las distintas concentraciones de metabolitos (77,78). En la práctica esto se hace ajustando las concentraciones medidas con la densidad de la orina o con la concentración de creatinina.

La creatinina es un producto metabólico cuya velocidad de excreción refleja la masa corporal del sujeto. En circunstancias normales el efecto de la dieta, estado de hidratación, y diuresis sobre la velocidad de excreción de la creatinina es relativamente insignificante. Por lo tanto, las medidas de los determinantes referidas a la excreción de creatinina se correlacionan normalmente mejor con el grado de exposición (77,78).

El ajuste de la concentración con la densidad se realiza multiplicando la concentración del biomarcador por la relación $(1,020-1)/(d-1)$ donde d es la densidad real de la muestra de orina en g/ml y 1,020 g/ml es el valor normal de densidad (51).

El ajuste con la concentración de creatinina es la corrección más frecuentemente utilizada en la determinación de MA y PGA y consiste en dividir la concentración del biomarcador por la concentración de creatinina excretada determinada en una misma muestra.

En la Tabla 8.5 se resumen los valores medios y el rango de las concentraciones de los metabolitos urinarios, tal como se han determinado y corregidos en función de la densidad o de la concentración de creatinina.

Tabla 8.5 Concentraciones medias y rangos de los metabolitos urinarios.

	n	Media aritmética	Desviación estándar	rango
Metabolitos urinarios (mg/L)				
MA	70	292	344	17-1880
PGA	89	156	130	2-660
Corregidos con la densidad (mg/L)				
MA	70	311	352	19-2169
PGA	89	178	127	2-598
Corregidos con creatinina (mg/ g creat)				
MA	70	220	197	12-793
PGA	89	131	94	2-446

Como se muestra en la figura 8.9a hay una buena correlación entre la concentración de ácido mandélico en orina y la dosis externa de estireno. Sin embargo, la corrección con la densidad (figura 8.9b) o con la creatinina (figura 8.9c) mejora dicha correlación.

El factor de correlación mejora notablemente cuando la corrección se lleva a cabo con la creatinina. Esto sucede de la misma forma cuando se considera el ácido fenilgloxílico y la suma de ambos metabolitos aunque no es tan notable en el caso de la concentración de PGA, como puede verse en la Tabla 8.6.

Tabla 8.6 Coeficientes de correlación entre la dosis recibida y la concentración de los indicadores MA, PGA y MA+PGA en orina sin corregir, corregida con la concentración de creatinina y con la densidad.

	sin corrección	densidad	creatinina
Ácido mandélico (MA)	0,479 p<0,001	0,491 p<0,001	0,631 p<0,001
Ácido fenilgloxílico (PGA)	0,453 p<0,001	0,504 p<0,001	0,525 p<0,001
MA + PGA	0,494 p<0,001	0,521 p<0,001	0,629 p<0,001

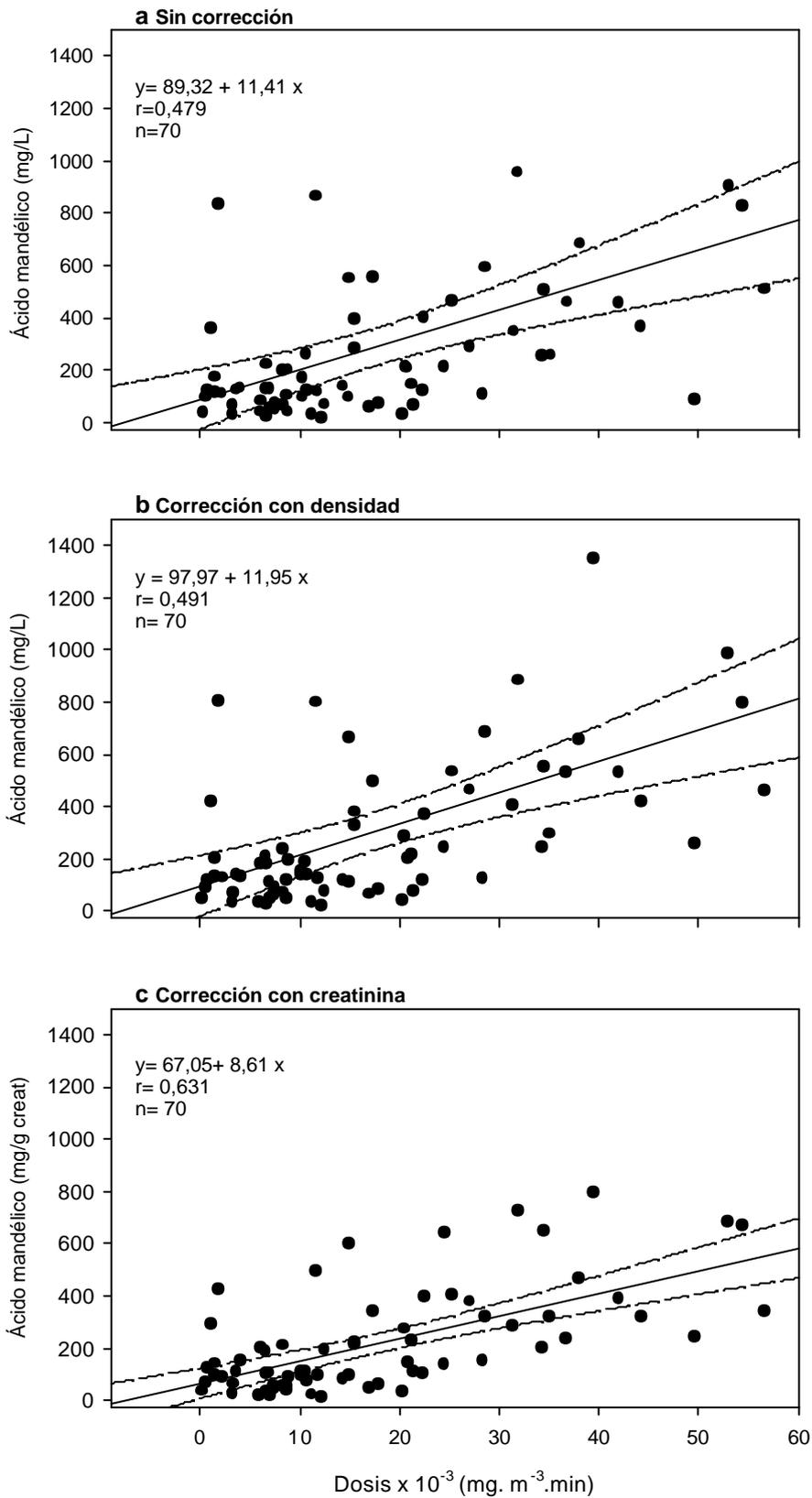


Figura 8.9 Rectas de regresión entre la dosis externa recibida y la concentración de ácido mandélico en orina, la concentración de ácido mandélico corregida con densidad y la concentración de ácido mandélico corregida con creatinina.

Algunos autores expresan los resultados de los metabolitos de estireno en orina (MA y PGA) sin corregir, ya que indican que el ajuste de las variaciones en el flujo de orina usando la densidad o la concentración de creatinina no ofrece ventajas definitivas (2,38,79). Sin embargo, los resultados obtenidos en este trabajo demuestran la mejora con la corrección, estando más en concordancia con los obtenidos por Ong e Ikeda (29,61). A partir de ahora se considerarán, por tanto, los resultados corregidos con creatinina.

En las figuras 8.9c y 8.10 se ha representado la dosis externa de los trabajadores expuestos a estireno en el eje de abscisas y las correspondientes concentraciones de los metabolitos ácido mandélico y fenilgloxílico en el eje de ordenadas respectivamente. En ambos casos hay una relación estadísticamente significativa entre la concentración del metabolito y la dosis.

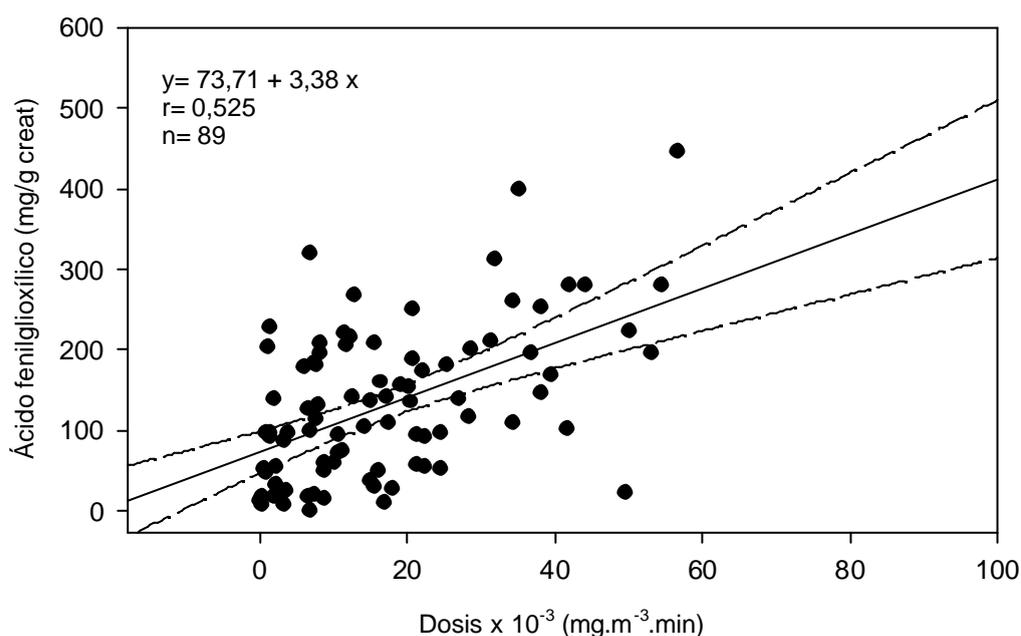


Figura 8.10 Recta de regresión entre la dosis externa recibida y la concentración de ácido fenilgloxílico corregida con creatinina.

Las ecuaciones de los modelos ajustados son:

$$\text{MA (mg/g creat)} = 67,05 + 8,61 \times \text{dosis} \times 10^{-3} \text{ (mg. m}^{-3}\text{.min)}$$

$$\text{PGA (mg/g creat)} = 73,71 + 3,38 \times \text{dosis} \times 10^{-3} \text{ (mg. m}^{-3}\text{.min)}$$

Los coeficientes de correlación de 0,63 y 0,53 (Tabla 8.6) indican una correlación moderada, aunque estadísticamente significativa ($p < 0,001$) entre las variables. Además, también se observa en la Tabla 8.6 una buena correlación con la exposición cuando se considera la suma de las concentraciones de MA y PGA.

Estos coeficientes de correlación son, en general, inferiores a los encontrados en otros estudios (29,32,42,43), donde se mencionan coeficientes en el rango de 0,82 a 0,86 para MA y de 0,78 a 0,84 para PGA. Sin embargo, De Rosa y cols. (56) encuentran coeficientes de correlación inferiores, de 0,64-0,81 para MA y 0,44-0,59 para PGA, dependiendo del día de la semana en que se haya realizado la medida.

Estos últimos autores señalan que debido a la rapidez con la que el organismo humano metaboliza el estireno, los niveles de MA al final de la jornada pueden ser muy sensibles a la exposición ambiental en las horas inmediatamente anteriores a la toma de muestra, mientras que la influencia de las fluctuaciones en los niveles de exposición durante la jornada es casi despreciable a las 15 horas después de finalizada la exposición. De Rosa y cols. estudiaron a 14 personas expuestas a concentraciones ambientales con grandes fluctuaciones durante la jornada. La correlación entre la exposición y los metabolitos urinarios MA+PGA era altamente significativa para la orina recogida al inicio de la jornada siguiente ($r=0,81$) pero no era significativa en la orina recogida al final de la jornada ($r=0,33$). Sin embargo, cuando examinaron a un grupo pequeño (6 trabajadores) expuesto a una concentración constante, la correlación entre los metabolitos urinarios totales y los datos ambientales fue excelente ($r=0,996$).

Además de la variabilidad que introduce el hecho de que la concentración ambiental a la que están expuestos los trabajadores fluctúe en el tiempo, hay que tener también en cuenta que la velocidad de excreción de los metabolitos es variable. Wilson y col (37) estudiaron la excreción urinaria de dos trabajadores durante una semana encontrando que el máximo en la excreción de ambos tenía lugar entre 4 y 8 horas después de finalizar la exposición.

Sin embargo, Pekari y cols. (42), al estudiar a 25 trabajadores expuestos a estireno, señalan que 15 de ellos presentan las máximas concentraciones de MA a partir de dos horas después de finalizar la exposición, nueve muestran concentraciones pico al finalizar la exposición y en uno el máximo de concentración se obtuvo al final de la primera parte de la jornada. De este modo concluyen que inmediatamente después de finalizar la jornada, la excreción urinaria no es estable, por lo que el tiempo de toma de muestra no

debe ser el mismo para cada trabajador, particularmente si la exposición no es uniforme o es mayor por la tarde. Para algunos trabajadores, y en determinadas condiciones de exposición, la toma de muestra al final de la jornada puede ser inadecuada y conducir a resultados erróneos (bajos niveles urinarios con relación a la exposición). Esto indica que si, como se recomienda para estos indicadores (48,49), se elige el momento de final de la jornada para la toma de muestras, se pueden obtener resultados generalmente inferiores al valor máximo para un importante porcentaje de los individuos sobre los que se realizó el muestreo.

Respecto a la proporción relativa de los metabolitos, el valor medio obtenido en este trabajo para la relación MA/PGA determinada en las orinas recogidas a los trabajadores después de la exposición es 2,1. Este valor es muy semejante al de 2,2 hallado por Pekari y cols. (42) pero superior al valor de 1,72 señalado por otros autores (17,81). Sin embargo, hay que tener en cuenta que este último valor se obtuvo en condiciones experimentales de exposición durante 8 h a una concentración constante de 100 ppm.

De acuerdo con nuestros resultados, el cociente MA/PGA varía mucho en las muestras recogidas después de la exposición como puede apreciarse en la figura 8.11, donde se muestra la distribución de los resultados obtenidos. Esta variación también ha sido observada por otros autores (17,42). Sin embargo, aunque algunos autores señalan que la relación MA/PGA puede depender de la intensidad de la exposición (17), en nuestro caso cuando se representa dicho cociente frente a la dosis (figura 8.12) la recta obtenida mediante regresión lineal es $y = 1,457 + 0,035 x$ ($r=0,26$, $p>0,05$). Por lo tanto, no se observa ninguna correlación estadísticamente significativa, lo que indica que no hay una dependencia lineal entre esta relación y la dosis recibida. Este hecho confirma además la variación interindividual en la velocidad de metabolización de estireno (17).

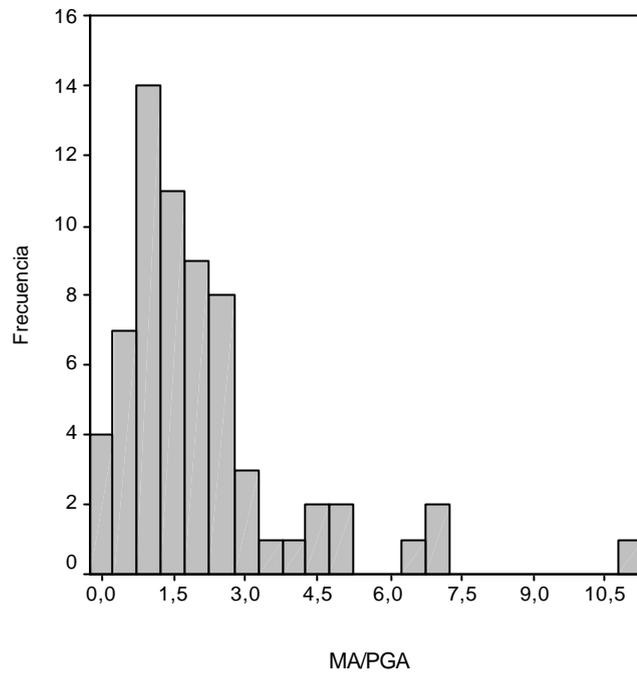


Figura 8.11 Distribución de los valores de la proporción entre la concentración de ácido mandélico y la de ácido fenilgloxílico en orina.

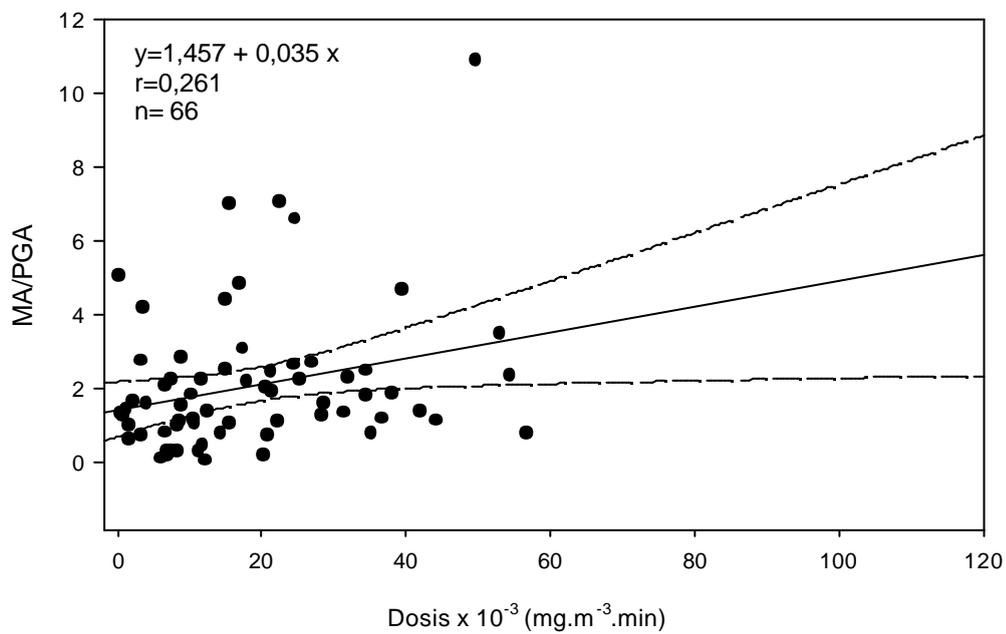


Figura 8.12 Recta de regresión entre la dosis externa recibida y la proporción entre las concentraciones de ácido mandélico y fenilgloxílico.

Ya que el PGA se forma por oxidación del MA y que la cantidad total de MA y PGA representa el 95% del estireno absorbido, se ha considerado que la suma de ambos metabolitos sería mejor indicador de la exposición que los metabolitos por separado. De hecho, como se ha visto en la Tabla 8.6 el coeficiente de correlación obtenido para la relación entre la dosis recibida y la suma de los metabolitos es semejante al obtenido para MA, sin embargo hay que considerar que el número de pares de datos es muy superior. En la figura 8.13 se representado esta relación.

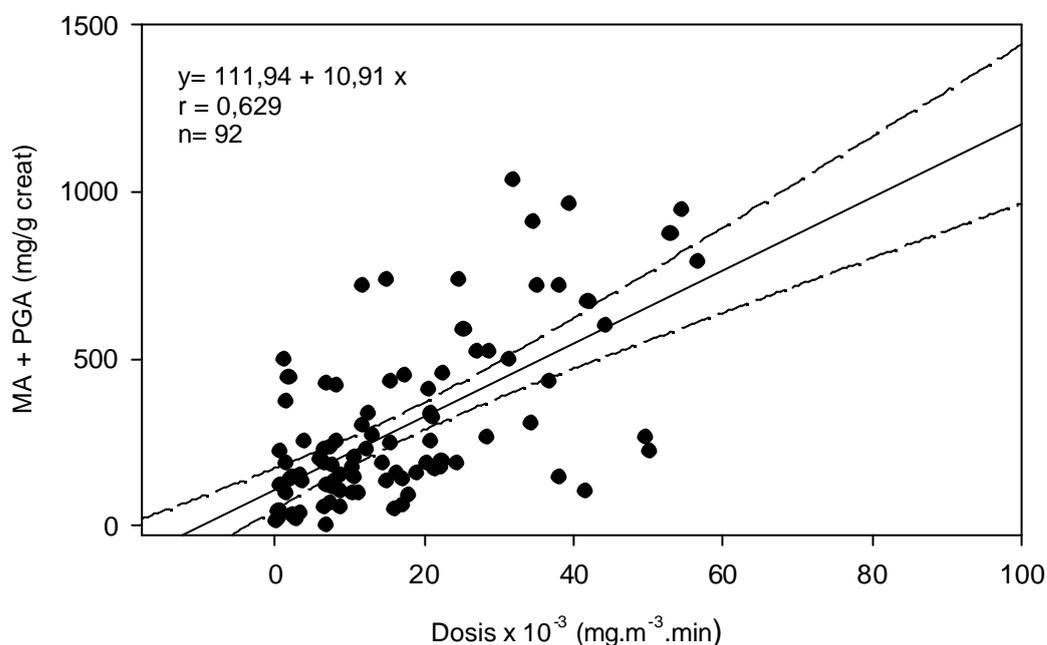


Figura 8.13 Recta de regresión entre la dosis externa recibida y la suma de las concentraciones de los ácidos mandélico y fenilgloxílico corregidas con creatinina.

La utilización de la suma de los metabolitos supone una ventaja, ya que las diferencias interindividuales en la metabolización de estireno originan variaciones en las proporciones entre los metabolitos para los distintos individuos (42). Empleando este indicador, las diferencias se suavizan porque una vez finalizada la exposición el aumento en la concentración de PGA solo puede tener como fuente la concentración de MA presente en el organismo y la disminución en la concentración del MA tan solo puede conducir a dicho aumento.

Como se aprecia en la figura 8.13, el valor de la ordenada en el origen es de 111,9 mg/g creatinina (los valores que corresponden a la ordenada en el origen cuando se estudia la correlación de cada metabolito por separado con la dosis son de 67,1 y de 73,7 mg/g creatinina para MA y PGA respectivamente).

Sollenber y cols. (38) estudiaron la relación de la concentración de MA y MA+PGA con la exposición a estireno a lo largo de una semana y observaron que las pendientes de las rectas de regresión que relacionan ambas variables aumentan día a día, lo que indica que la excreción de los metabolitos después de una jornada de exposición no se completa antes del comienzo de la siguiente. Según esto, la relación entre la concentración de estireno en el ambiente y la excreción de los metabolitos depende del día de la semana en que se tome la muestra. Así, la concentración de MA estimada al final de la jornada es cerca del 40% mayor cuando se usa la ecuación obtenida a partir de las muestras recogidas el jueves que cuando se usa la del lunes. Pekari y cols. (42) en un estudio semejante llegaron a conclusiones diferentes señalando que en muestras recogidas al finalizar la jornada el efecto de la acumulación de estireno es siempre relativamente pequeño.

En este trabajo no se ha planteado un estudio de acumulación, sin embargo, ya que tanto la excreción de MA como la de PGA transcurren en dos fases, con una vida media en el rango de 4 horas para la fase rápida de eliminación y de 25 horas para la fase de eliminación lenta en el caso de MA y de 3 y 32 horas, respectivamente, en el caso de PGA (38,82,83), es lógico que una fracción de la concentración del ácido mandélico y ácido fenilglicólico en la orina recogida al final de la jornada se deba a la exposición que ha tenido lugar el día anterior. De hecho, en las orinas recogidas al inicio de la mañana se ha determinado también la concentración de MA y PGA, encontrándose valores para la suma de los metabolitos en el intervalo de 0,5 a 88,2 mg/g creatinina siendo la media de 18,6 mg/g creatinina. En la figura 8.14 se representa la distribución de los resultados obtenidos sumando las concentraciones de MA y PGA (n=88).

Este efecto se ha tenido en cuenta en el valor VLB para estireno fijado en el documento sobre valores límite (48) ya que se indica expresamente que la determinación debe hacerse después de 4 ó 5 días consecutivos de trabajo con exposición y al final de la última jornada, dado que los indicadores biológicos se eliminan con vidas medias superiores a las 5 horas.

De los 115 trabajadores estudiados sólo un grupo de diez utilizaba protección respiratoria. En la Tabla 8.7 se han recogido los valores de dosis externa medidos

para estos trabajadores así como la suma de las concentraciones de los metabolitos determinados en la orina. En la tercera columna de la Tabla se incluye el valor que se obtendría para la suma MA+PGA utilizando la ecuación obtenida para una población no protegida,

$$\text{MA+PGA (mg/g creat)} = 111,9 + 10,9 \times 10^{-3} \text{ dosis (mg.m}^{-3}\text{.min)}.$$

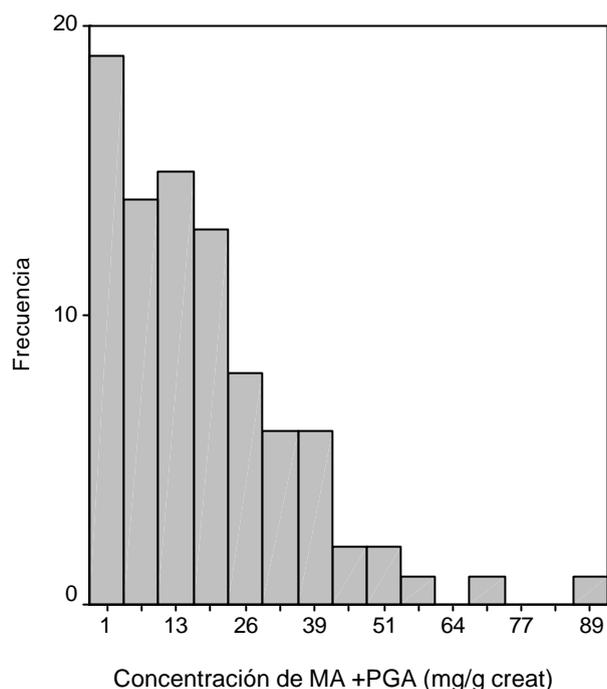


Figura 8.14 Distribución de la concentración de la suma de los ácidos MA y PGA en orina al inicio de la mañana.

Tabla 8.7 Dosis externa recibida, concentración de MA + PGA encontrada y concentración de MA+PGA calculada a partir de la recta de regresión para aquellos individuos que emplearon medios de protección.

Dosis x 10 ⁻³ (mg. m ⁻³ .min)	MA+ PGA experimental (mg/g creat)	MA+PGA calculada (mg/g creat)
3,6	408	151
29,3	309	432
17,5	221	303
22,8	142	361
4,4	141	159
31,9	209	460
28,9	138	428
18,5	280	314
17,9	176	307
5,6	382	173

Aunque el número de trabajadores que utilizaron protección respiratoria es pequeño y, por otra parte, no se controló el estado de las máscaras empleadas, puede observarse en la Tabla 8.7 que, en general, la concentración de los metabolitos urinarios disminuyó. La disminución media obtenida es del 38%, muy cercana al 40% que encuentran Pekari y cols. (42) lo que confirma la eficacia de esta protección. Otros autores han encontrado niveles de reducción similares (14,15).

8.4.2 Estireno en aire exhalado

La distribución de las concentraciones de estireno en aire exhalado medidas al final de la exposición puede verse en la figura 8.15.

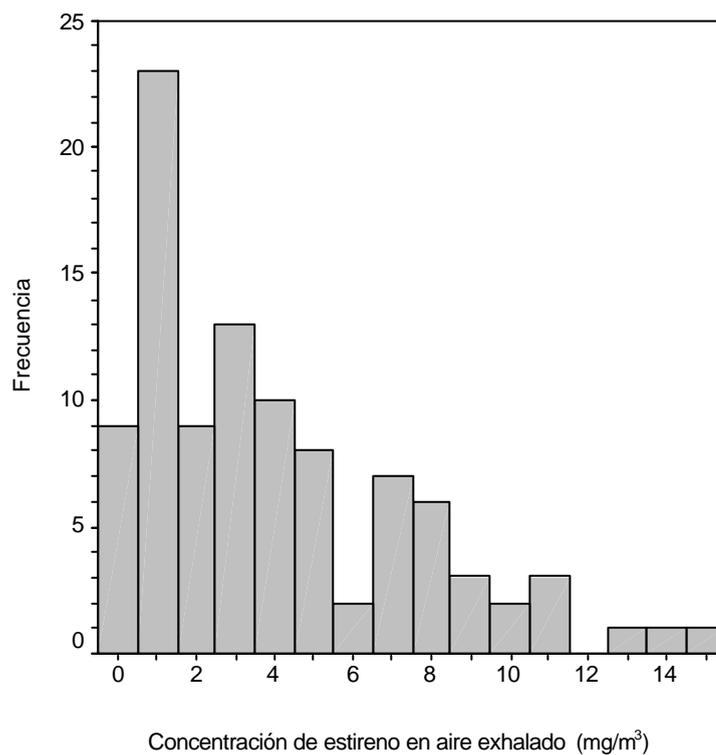


Figura 8.15 Distribución de la concentración de estireno en aire exhalado.

La concentración de estireno en aire exhalado, determinada para 98 de los trabajadores -ya que no se consideran los diez que utilizaron protección respiratoria- osciló entre 0,1 y 15,5 mg/m³ y las medias aritmética y la mediana fueron 4,0 y 3,0 mg/m³, respectivamente.

En la figura 8.16 puede verse la correlación entre la dosis de exposición, expresada como concentración media ponderada en el tiempo multiplicada por el tiempo que se estuvo expuesto (D , $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{min}$), como variable independiente y la concentración de estireno en aire exhalado de final de la exposición (AEF , mg/m^3) como variable dependiente.

Los resultados indican que hay una relación estadísticamente significativa entre las dos variables al 99% de confianza ($p < 0,001$). La relación entre la concentración de estireno en aire exhalado y la dosis de exposición se ajusta a un modelo lineal cuya ecuación es:

$$\text{AEF} (\text{mg}/\text{m}^3) = 1,058 + 0,163 \times 10^{-3} \text{ dosis} (\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{min})$$

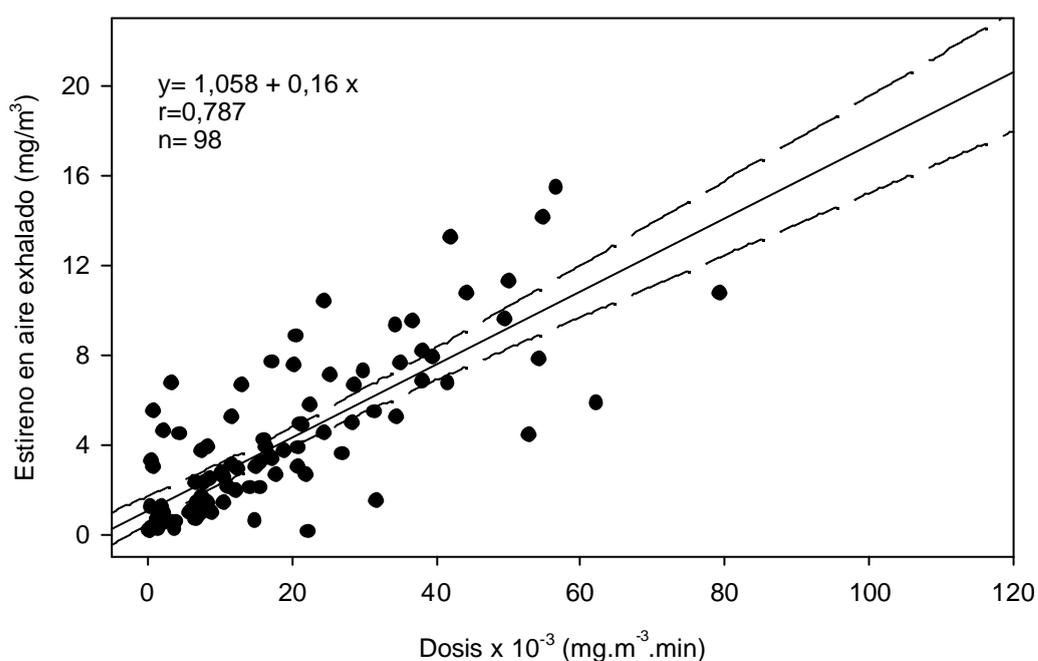


Figura 8.16 Recta de regresión entre la dosis externa recibida y la concentración de estireno en aire exhalado.

El coeficiente de correlación obtenido es 0,79. Utilizando este mismo sistema de toma de muestra se han encontrado resultados semejantes para otros vapores orgánicos tales como tolueno ($r=0,81$; $n=265$), hexano ($r=0,85$; $n=234$) (84) e isoflurano ($r=0,82$; $n=178$) (85). También es semejante al encontrado por otros autores para estireno utilizando distintos sistemas de toma de muestra

($r=0,76$; $n=39$) (29). Sin embargo, cuando el número de personas estudiadas es pequeño se obtienen factores de correlación mucho mayores, del orden de $0,87$ ($n=17$) (86), $0,91$ ($n=9$) (31) e incluso de $0,99$. Este último valor se obtuvo en un estudio en el que se determinó la concentración de estireno en aire exhalado después de la exposición a concentraciones constantes en un grupo de seis voluntarios (18), en una experiencia controlada en el laboratorio.

El valor de ordenada en el origen de la recta de regresión obtenida es de $1,058 \text{ mg/m}^3$ (al 95% de confianza el valor de la ordenada en el origen estaría comprendido entre $0,42$ y $1,69$). Este valor es próximo al encontrado por Ong y col. (29) de $1,16 \text{ mg/m}^3$ y podría indicar que parte del estireno retenido el día anterior no se eliminó por completo durante el periodo de descanso entre ambas jornadas de trabajo y, por tanto, el compuesto se puede ir acumulando conforme avanza la semana. Sin embargo, también se ha descrito un valor de ordenada en el origen de 1.6 mg/m^3 en un estudio con voluntarios que no habían tenido exposición previa al disolvente, no pudiéndose hablar en este caso de acumulación (18).

En 78 de las muestras de aire exhalado tomado al inicio de la jornada de trabajo, se ha detectado la presencia de estireno, siendo la concentración media de $0,67 \text{ mg/m}^3$ (rango $0,08$ a $1,77 \text{ mg/m}^3$). Sin embargo estas concentraciones son pequeñas y hay que considerar también que las muestras se han tomado en jueves, es decir, al final de la semana laboral, por lo que no parece que la acumulación sea importante.

Como se comentó en el apartado 8.4.1 hubo un grupo de diez trabajadores que utilizaron equipos de protección individual. En la Tabla 8.8 se han recogido los valores de dosis externa medidos para estos trabajadores así como la concentración de estireno determinada en aire exhalado. En la tercera columna de la Tabla se incluye el valor que se hallaría para la concentración de estireno en aire exhalado utilizando la ecuación obtenida para una población no protegida:

$$\text{AEF (mg/m}^3\text{)} = 1,058 + 0.163 \times 10^{-3} \text{ dosis (mg.m}^{-3}\text{.min)}$$

Puede observarse en la tabla que, en general, la concentración de estireno en aire exhalado, al igual que sucediera para los metabolitos, disminuyó considerablemente.

Tabla 8.8 Dosis externa recibida, concentración de estireno en aire exhalado encontrada y concentración de estireno en aire exhalado calculada a partir de la recta de regresión para aquellos individuos que emplearon medios de protección.

Dosis x 10 ⁻³ (mg.m ⁻³ .min)	AEF experimental (mg/m ³)	AEF calculada (mg/m ³)
3,57	0,89	1,64
29,29	1,05	5,83
17,51	2,03	3,91
22,78	1,36	4,77
4,35	1,10	1,77
31,92	0,83	6,26
28,94	3,63	5,78
18,53	0,52	4,08
17,88	1,36	3,97
5,55	1,23	1,96

Varios investigadores han empleado las medidas de aire exhalado final para estimar la retención respiratoria del estireno después de exposiciones llevadas a cabo con voluntarios (2,21,22,24,87,88). En estos estudios se ha supuesto que el aire exhalado final representa al aire alveolar y, por lo tanto, puede definirse la retención como $(1 - C_e/C_i)$ donde C_e y C_i representan las concentraciones de estireno en aire exhalado e inhalado, respectivamente.

En general, en estos estudios las exposiciones tienen lugar a concentraciones constantes durante periodos de treinta minutos o superiores, lo que permite que los tejidos muy vascularizados se saturen de estireno a la concentración inhalada. De este modo cuando se toma la muestra de aire exhalado, la concentración de estireno en sangre venosa mezclada -sobre la que influyen principalmente los tejidos vascularizados- y la correspondiente concentración en aire exhalado están próximas al equilibrio.

Sin embargo, Petreas y col (18) considerando que las exposiciones laborales se caracterizarán, en general, por concentraciones variables en el tiempo, incluso en la escala de minutos, estudiaron los niveles de estireno en aire exhalado entre voluntarios expuestos tanto a concentraciones constantes como variables para determinar si la retención era distinta en ambos casos. Los resultados obtenidos indicaron que en el caso de concentraciones constantes la retención era de 0,935 (0,927-0,943) independientemente del nivel de concentración; mientras que, para concentraciones variables en el tiempo las retenciones obtenidas oscilaban entre 0,956 y 0,973. La conclusión que

obtuvieron fue que cuando las concentraciones ambientales son variables los tejidos no alcanzan el equilibrio por lo que las diferencias locales en la concentración en sangre venosa conducen a concentraciones en aire alveolar diferentes a las que se observan a concentraciones ambientales constantes por lo menos en periodos de treinta minutos.

Si se considera la concentración de estireno inhalada como la concentración media a la que estuvo expuesto cada trabajador puede calcularse la retención de estireno en condiciones reales de trabajo. Los resultados obtenidos indican que las retenciones así calculadas se encuentran en el rango de 0,806 a 0,999, siendo la media de 0,947.

Se ha dividido la población en dos grupos de acuerdo con lo señalado en el trabajo anteriormente mencionado, es decir, un grupo formado por los trabajadores cuyos valores calculados de retención son inferiores a 0,95 (45% de los casos) y otro en el que son superiores. En la Tabla 8.9 puede verse un resumen de los parámetros estadísticos para estos dos grupos.

Tabla 8.9 Datos estadísticos de los dos grupos en que resulta dividida la población en función de la retención.

	Retención < 0,95	Retención > 0,95
N	41	51
Media	0,920	0,969
Mediana	0,934	0,968
Varianza	0,0010	0,0001
Desviación estándar	0,0321	0,0114
Rango	0,807 – 0,950	0,950 – 0,999

En la gráfica siguiente (figura 8.17), se ha representado la distribución de frecuencias de estos valores. En ella, el histograma de la segunda muestra se ha invertido respecto al de la primera para que pueda observarse la forma de ambas distribuciones.

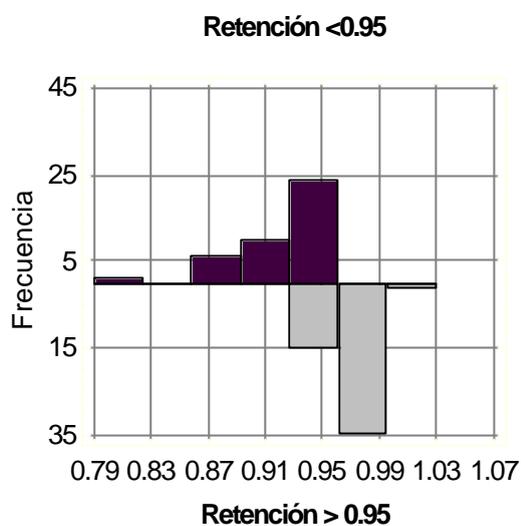


Figura 8.17 Distribución de la población en función de la retención pulmonar de estireno.

Hay diferencias estadísticamente significativas entre las distribuciones, las medias y las medianas de las dos poblaciones. Este hecho indica que en condiciones reales de exposición a estireno, la concentración de estireno en el aire exhalado será mayor cuando la exposición tenga lugar a concentraciones relativamente constantes que cuando la exposición tiene lugar a concentraciones variables.

En la figura 8.18 se ha representado la concentración de estireno en aire exhalado frente a la dosis externa recibida para cada uno de estos grupos. Como se observa en la figura, en cada caso los resultados se ajustan a una recta cuyas ecuaciones son:

$$(1) \text{ AEF}(\text{mg}/\text{m}^3) = 0,864 + 0,240 \times 10^{-3}D(\text{mg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{min}); \quad r = 0,929 \text{ (Retención } < 0,95)$$

$$(2) \text{ AEF}(\text{mg}/\text{m}^3) = 0,275 + 0,148 \times 10^{-3}D(\text{mg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{min}); \quad r = 0,840 \text{ (Retención } > 0,95)$$

Hay que señalar que tanto las pendientes de las rectas como las ordenadas en el origen son significativamente distintas. Por otro lado, los factores de correlación obtenidos son en ambos casos superiores al encontrado cuando la población se ha considerado de forma global (figura 8.16), lo que indica que la forma en que tenga lugar la exposición introduce una fuente de variabilidad importante cuando se considera la correlación entre la dosis externa y la concentración en aire exhalado.

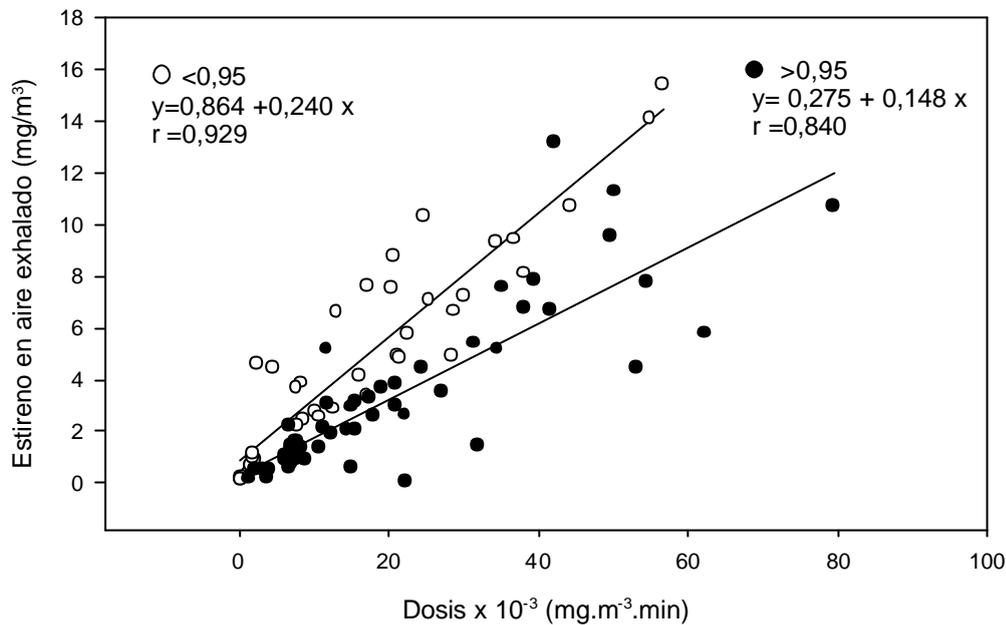


Figura 8.18 Recta de regresión entre la dosis externa recibida y la concentración de estireno en aire exhalado para cada uno de los dos grupos generados en función del valor de retención.

Así mismo, el factor de correlación de la ecuación 1, se aproxima bastante al encontrado por Petreas y cols. (18) en su estudio realizado con voluntarios expuestos a concentraciones constantes.

La estrecha relación que se encuentra entre el aire exhalado y la dosis recibida, independientemente de cómo haya sido la exposición, indica que el aire exhalado es un buen indicador de la exposición a estireno y no sólo de la exposición más reciente como algunos autores han señalado (23,31).

El aire exhalado se ha considerado como un posible indicador de exposición muy ventajoso para el control biológico de vapores orgánicos debido a que es muy específico y bien aceptado por los trabajadores, ya que la toma de muestras constituye una técnica no invasiva. Sin embargo, este indicador no se ha desarrollado como era de esperar debido a las dificultades que presenta la toma de muestra y el análisis, sobre todo cuando las concentraciones esperadas del contaminante en aire exhalado son muy bajas. Su principal desventaja es que los resultados pueden variar considerablemente dependiendo del tipo de técnica de toma de muestra y del momento en que se realiza esta última. Hay pocos datos de estudios de campo pero ésta es probablemente la

razón de la falta de acuerdo en las correlaciones obtenidas y, por tanto, en los valores límite que se obtienen a partir de ellas.

Una extensa revisión reciente de la bibliografía acerca de los procedimientos, aplicaciones y limitaciones del análisis del aire exhalado (89) predice que los grandes avances en este campo, particularmente en los métodos de toma de muestra, harán que este indicador sea más utilizado en el futuro.

Otros autores señalan como desventaja (29) el que las muestras tengan que ser analizadas inmediatamente después de haber sido recogidas, ya que el almacenamiento conduce a pérdidas significativas del disolvente orgánico.

El método desarrollado en este trabajo combina por un lado, la adsorción del contaminante en un sólido, lo que concentra la muestra y facilita su transporte y almacenamiento con pérdidas mínimas en un periodo de 15 días. Por otro lado, permite el análisis completo, y no sólo de una alícuota, de la cantidad adsorbida mediante desorción térmica. Por tanto este método es muy útil sobre todo cuando sólo un pequeño porcentaje del contaminante absorbido por el organismo se excreta por los pulmones.

8.4.3 Estireno en orina

La distribución de las concentraciones de estireno que se han medido en las muestras de orina recogida al finalizar la exposición se puede ver en la figura 8.19.

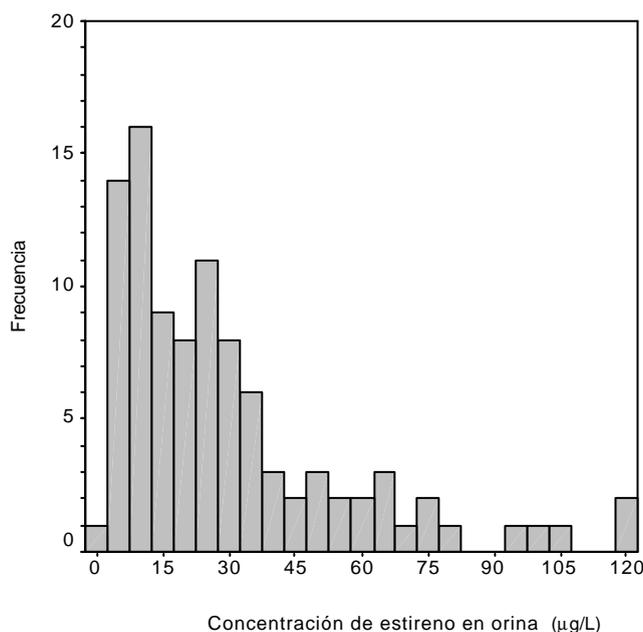


Figura 8.19 Distribución de la concentración de estireno en orina.

La concentración de estireno en orina, medida al final de la exposición, se encuentra en el rango de 2,3 a 119,6 $\mu\text{g/L}$, la media aritmética y la mediana fueron respectivamente de 29,5 $\mu\text{g/L}$ y 22,6 $\mu\text{g/L}$.

En la figura 8.20 se puede ver la correlación entre la dosis de exposición ($\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{min}$), como variable independiente y la concentración de estireno en orina ($\mu\text{g/L}$) de final de la exposición como variable dependiente. La relación entre ambas variables se ajusta a un modelo lineal cuya ecuación es:

$$\text{EO } (\mu\text{g/L}) = 7,97 + 1,08 \times 10^{-3} \text{Dosis } (\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{min})$$

Cada punto de la figura 8.20 representa una pareja de datos de dosis recibida y concentración de estireno en orina, la línea sólida es la recta de regresión y las líneas discontinuas representan los límites de confianza superior e inferior al 95%. Los resultados indican que hay una relación estadísticamente significativa entre las dos variables al 99% de confianza ($p < 0,001$). El valor del coeficiente de correlación es de 0,828. Este valor es comparable a los obtenidos por otros autores, que se encuentran entre 0,82 ($n=208$) y 0,90 ($n=112$) (23,29-32,42).

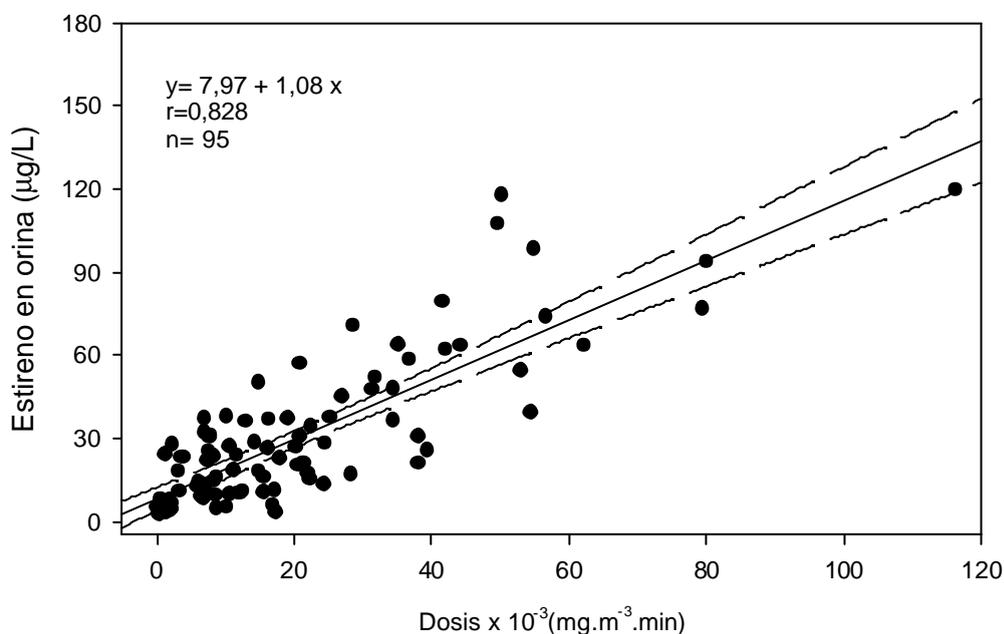


Figura 8.20 Recta de regresión entre la dosis externa recibida y la concentración de estireno en orina.

Si se efectúa la corrección de la concentración de estireno con la concentración de creatinina determinada en orina, tal como se hiciera en el caso de los metabolitos y se representa frente a la dosis, el coeficiente de correlación que se obtiene es 0,529. Este coeficiente es inferior al obtenido utilizando los valores de concentración sin corregir (0,828).

La corrección con creatinina es poco apropiada en la determinación de aquellos compuestos cuya excreción se produce por difusión tubular, como es el caso de estireno, tetracloroetileno, metilcloroformo o tolueno (90-92).

El proceso de la difusión tubular está gobernado por el equilibrio entre las presiones parciales en orina y plasma. Como consecuencia de este equilibrio, la proporción entre las concentraciones de estireno en orina y sangre tienden a igualarse con los coeficientes de distribución del compuesto en ambos especímenes. Dado que la disolución de gases y vapores en líquidos es un proceso rápido, el equilibrio se alcanza en un periodo de tiempo relativamente corto, por esta razón las variaciones en los niveles ambientales del disolvente inducen cambios relativamente rápidos de su concentración en sangre y como consecuencia de su concentración en la orina que se va formando. Por tanto, en cualquier momento que se mida, la concentración de un disolvente en la orina puede ser considerada representativa de la concentración del mismo en la sangre que irrigó el riñón durante el transcurso de la exposición y en definitiva de los niveles ambientales (23).

Pezzagno encontró que la concentración de estireno en sangre arterial se incrementa de forma continua, desde el comienzo hasta que transcurre la primera hora de exposición, y por lo tanto, también lo hace la concentración de estireno en la orina que se va formando. Transcurrida la primera hora, y mientras dure la exposición, la situación se estabiliza. Esta orina se recoge en la vejiga que actúa como colector y mezclador. En la vejiga los intercambios de solutos entre orina y sangre o tejidos son relativamente mucho más lentos, y por tanto la medida de la concentración de un disolvente en una muestra de orina que se corresponda con un intervalo de exposición conocido se convierte en una forma de integración natural de las concentraciones instantáneas a que se estuvo expuesto en el intervalo de tiempo en que la orina se formó. Esto hace que la concentración de estireno en orina se pueda considerar una medida promediada en el tiempo, representativa de toda la exposición desde que se recolectara una muestra de orina anterior (23).

La medida del compuesto no metabolizado en orina se ha aplicado a un numeroso grupo de disolventes que se emplean habitualmente en distintos

sectores industriales. En 1987 Ghittori y colaboradores (30) presentaron un trabajo en el que estudiaron la utilidad de la medida de la concentración en orina de distintos disolventes, entre los que se encontraba el estireno, como indicador biológico de exposición. El muestreo ambiental se realizó durante media jornada, de 4 horas de exposición, y al finalizar la misma se recogió la muestra de orina correspondiente. Para 200 trabajadores expuestos durante 4 horas, la correlación obtenida entre la concentración de estireno en ambiente y en orina fue de 0,88. Se han realizado trabajos similares con otros disolventes obteniendo en todos los casos correlaciones significativas (90-94).

La organización de las tareas diarias en las empresas que se visitaron para realizar este trabajo es distinta de la que se produce en las grandes empresas, en las que suele existir dos turnos de cuatro horas con idénticas tareas separados por un periodo de descanso. En este estudio las tareas de laminación se realizaban habitualmente en una parte de la jornada, que rara vez superó las cinco horas, dedicándose el resto de tiempo a otras tareas secundarias (limpieza y preparación de material para el día siguiente, lijado, acondicionado, elaboración de moldes, etc.) en las que se produce una concentración ambiental de estireno casi nula.

Por tanto se decidió muestrear la concentración ambiental y tomar muestras de orina cuya concentración en estireno fuese representativa de la fracción de la jornada de autentica exposición, así se recogieron muestras de orina previas al inicio de la etapa y justo al concluir la exposición. Por este motivo, no todas las muestras eran equivalentes en cuanto al tiempo de muestreo, ya que hubo empresas en las que las tareas de laminación se extendieron durante mayor tiempo que otras. Los tiempos de muestreo, como ya se dijo en el apartado 8.2.2 se encontraron en el rango de 88 a 315 minutos siendo como término medio de 3,5 horas. Los valores de tiempo de muestreo fueron siempre superiores a los 60 minutos de modo que se puede considerar que se había alcanzado el equilibrio necesario en la incorporación de estireno a la orina descrito por Pezzagno (23,80).

Con objeto de comparar la recta de regresión obtenida para el estireno en orina con las encontradas en otros trabajos (23,29-33,42), éstas se han recogido en la Tabla 8.10 y se han expresado en términos de dosis, como variable independiente, y de concentración de estireno en orina, como variable dependiente. También se expone, en cada caso, el número de muestras, N y los valores de coeficiente de regresión, r, obtenidos.

La ordenada en el origen obtenida en este trabajo se encuentra incluida en el intervalo de valores obtenidos por otros autores, que oscila entre los 3,43 µg/L y 19 µg/L. Respecto a los valores de la pendiente, que oscilan entre 0,55 y 1,46, también está incluido en ese intervalo el valor de 1,08 obtenido en este trabajo. Este valor es muy próximo al hallado por Gobba para la media jornada de la tarde.

En la mayoría de los trabajos reseñados, la recogida de las muestras de orina se realiza al inicio y final de cada una de las dos medias jornadas diarias. Este procedimiento operativo posibilitó que, en cada caso, se iniciase la exposición con la vejiga vacía. De esta forma, la orina recogida al final de cada etapa fue representativa exclusivamente del periodo de exposición.

Tabla 8.10 Rectas de regresión y coeficientes de correlación entre la dosis de estireno recibida y la concentración de estireno en orina.

Autor	Recta: $y = a + bx$	r	N
Pezzagno, 1985	$y = 16,06 + 1,33 \times 10^{-3} D$	0,88	101
Ghittoni, 1987	$y = 18,9 + 1,37 \times 10^{-3} D$	0,88	200
Perbellini, 1990 ^a	$y = 14 + 1,46 \times 10^{-3} D$	0,86	45
Imbriani, 1990 ^a	$y = 19,1 + 0,875 \times 10^{-3} D$	0,90	112
Gobba, 1993 ^b	$y = 12,05 + 1,41 \times 10^{-3} D$	0,82	208
Gobba, 1993 ^a	$y = 17,14 + 1,0 \times 10^{-3} D$	0,87	202
Pekari, 1993	$y = 3,43 + 0,71 \times 10^{-3} D$	0,89	31
Ong, 1994	$y = 32 + 0,55 \times 10^{-3} D$	0,25	39
Nuestros resultados	$y = 7,97 + 1,08 \times 10^{-3} D$	0,83	95

y concentración en orina (µg/L)

D dosis (mg.m⁻³.min)

r Coeficiente de correlación

N Número de muestras

^a Muestras de final de la jornada de la tarde

^b Muestras de final de la jornada de la mañana

El tratamiento posterior que se le dio a los datos fue ligeramente diferente en los distintos trabajos, así Pezzagno y cols. (23), cuyo estudio se llevó a cabo

sobre un grupo de 51 trabajadores, obtuvieron 101 muestras de orina (2 por trabajador) correspondientes al final de las dos medias jornadas de mañana (8,00 a 12,00) y tarde (13,00 a 17,00) relacionando la concentración de estireno en orina, en cada caso, con los valores de concentración ambiental promediada en el tiempo para cada una de las etapas. Con la totalidad de los datos obtuvieron un índice de correlación lineal de 0,88 utilizando la concentración ambiental promediada para 4 horas como variable independiente y la concentración en orina de final de cada media jornada como variable dependiente. Este elevado coeficiente de regresión evidencia la íntima relación entre la exposición y la concentración de estireno en orina, independientemente de que el muestreo se realizase en una exposición de mañana o de tarde.

Perbellini y cols. (31) determinaron la concentración de estireno en las muestras de orina de 9 trabajadores recogidas al final de la jornada durante 5 días consecutivos, de lunes a viernes, también midieron diariamente la concentración ambiental de estireno a la que se encontró expuesto cada individuo en las dos medias jornadas de cada día utilizando para ello dos muestreadores pasivos, uno para la mañana y otro para la tarde. Estos autores obtienen un coeficiente de correlación lineal de 0,54 para un total de 45 muestras (9 trabajadores, 5 días consecutivos) utilizando la concentración de estireno media de toda la jornada como variable independiente y la concentración en la orina de final de la jornada como variable dependiente. El coeficiente de correlación lineal mejoró notablemente -0,86- cuando se utilizaron los valores de concentración ambiental promediada en el tiempo correspondientes a la tarde como variable independiente en lugar de la concentración ambiental de toda la jornada.

Gobba y cols. (32) realizaron un estudio sobre 208 trabajadores expuestos laboralmente a estireno. La jornada de trabajo se desarrollaba en dos etapas de 8,00 a 12,00 por la mañana y de 13,00 a 17,00 por la tarde. En este estudio se recogieron muestras de orina al comienzo y final de cada media jornada y se determinó la concentración ambiental promedio de cada etapa. Estos autores realizaron tres análisis de regresión lineal distintos utilizando siempre la concentración de estireno ambiental promediada en el tiempo como variable independiente y la concentración de estireno en orina como variable dependiente: uno para los valores ambientales y biológicos correspondientes a la media jornada de la mañana, otro para los valores correspondientes a la media jornada de la tarde y finalmente, otro entre la concentración de estireno en el ambiente promediada en el tiempo equivalente a la totalidad de la

jornada y la concentración de estireno en orina promediada en el tiempo y equivalente a la totalidad de la jornada. Encontraron una gran semejanza entre las tres rectas obtenidas cuyos coeficientes de correlación lineal fueron 0,82; 0,87 y 0,88 respectivamente.

Ong y cols. (29) realizaron un estudio sobre una población de 39 individuos expuestos a estireno en el que determinaron el estireno en orina de final de la jornada. Las muestras de orina se recogían en este trabajo en recipientes de policarbonato, mientras que en todos los demás se recogieron en frascos de vidrio. El coeficiente de correlación lineal obtenido fue de 0,25, lo que atribuyen a la escasez de estireno presente en la orina. Sin embargo Gobba y cols. (95) han puesto de manifiesto que la recogida de orina en viales de policarbonato conlleva importantes errores por pérdidas de estireno.

Salvo en el trabajo de Ong (29) se puede afirmar que, en todos los casos, la concentración de estireno en las muestras de orina recogidas al finalizar cada periodo de trabajo está relacionada estrechamente con la exposición ambiental habida durante el mismo periodo.

En el presente trabajo se ha obtenido la concentración ambiental por tres técnicas de muestreo distintas y, posteriormente, se ha calculado el valor medio de concentración ambiental. Teniendo en cuenta que los tres métodos han sido previamente validados para el muestreo de estireno ambiental, la estimación de la concentración es un valor extremadamente fiable. Sin embargo, en los trabajos citados, el muestreo ambiental se realizó exclusivamente mediante el uso de un solo muestreador pasivo, lo que puede conllevar un mayor error asociado a dicha determinación.

Tampoco se especifica, en algunos de los trabajos citados, si el tiempo de muestreo coincidió exactamente con la totalidad del periodo de exposición y es frecuente, en higiene industrial, tomar muestras ambientales durante un intervalo de tiempo "representativo de la exposición", que puede no cubrir todo el periodo de exposición real. En este sentido, en el trabajo aquí presentado siempre se tomó la muestra de aire ambiental durante todo el periodo de tiempo que duró la exposición, determinando así la concentración ambiental media durante la misma.

Por otro lado, el muestreo biológico realizado en este trabajo siempre consistió en la recogida de muestras de orina al inicio y al final del periodo real de exposición, con lo cual se aseguró que la concentración de estireno en la

muestra de final de exposición reflejase exclusivamente el estireno eliminado a lo largo de dicho periodo.

El hecho de relacionar los niveles de concentración ambiental durante la exposición real con la concentración en orina en muestras recogidas al finalizar la misma, tiene una gran importancia, sobre todo cuando la exposición no se extiende a lo largo de toda la jornada de trabajo. En el caso de que el periodo de exposición real no coincida con la jornada de trabajo, las determinaciones realizadas en muestras de orina recogidas al final de la jornada de trabajo, después de que haya transcurrido un periodo de tiempo desde que finalizó la exposición real, contribuyen indudablemente a subestimar la dosis interna.

Aquellos trabajos de los reseñados, cuya estrategia de muestreo ambiental y biológica ha sido similar a la llevada a cabo en este, como es el caso de Gobba y cols. (32) que presentan una recta de regresión muy similar a la obtenida en este trabajo.

En cuanto al método analítico utilizado, en este trabajo se ha determinado la concentración de estireno en orina por el procedimiento de purga y trampa, adsorción en tubo adsorbente y desorción térmica, que se describió detalladamente en el capítulo 6. En el resto de trabajos reseñados, el procedimiento analítico empleado para determinar estireno en orina se basa en un método para determinación de compuestos volátiles en espacio de cabeza. La técnica de espacio de cabeza realiza la determinación de los compuestos volátiles presentes en la muestra de forma indirecta basándose en los equilibrios entre la concentración del compuesto en la fase líquida y en la fase vapor, por el contrario la técnica de purga y trampa analiza la totalidad del compuesto presente en cada muestra de orina. Esto, dado las bajas concentraciones existentes, supone una importante ventaja sobre la técnica de espacio en cabeza, ya que la cantidad de analito es mayor y además, para su cuantificación no es preciso realizar extrapolaciones basadas en coeficientes de partición determinados experimentalmente, minimizando así los errores asociados a la determinación. Por otro lado, este procedimiento ha sido rigurosamente validado por lo que las determinaciones de la concentración de estireno en orina realizadas con el mismo son lo suficientemente fiables como para utilizarlos en el control biológico de la exposición laboral a estireno, reforzando los resultados de regresión lineal obtenidos en este trabajo.

También se han realizado trabajos con voluntarios expuestos a concentración conocida de estireno determinando la concentración ambiental de exposición

y la concentración de estireno en orina al final de cada experiencia. Así, se estima que el nivel de estireno que cabe esperar después de una exposición de 2 horas a 50 ppm de estireno, durante las cuales se realiza ejercicio moderado, es de 57,4 $\mu\text{g/L}$ (23). Johansson y cols. (96) realizan un trabajo similar obteniendo un resultado que oscila entre 31,2 y 41,7 $\mu\text{g/L}$. A partir de la recta obtenida con los resultados del presente trabajo, el valor de concentración de estireno en orina que correspondería a una exposición de 2 horas a 50 ppm, sería de 35,6 $\mu\text{g/L}$, valor que está incluido en el intervalo estimado por Johansson.

Para el grupo de trabajadores que utilizó protección respiratoria, en la Tabla 8.11 se resumen los valores de dosis externa medidos así como la concentración de estireno determinada en orina. Como se hiciera con los demás indicadores, se ha incluido el valor que se obtendría para la concentración de estireno en orina utilizando la ecuación $\text{EO } (\mu\text{g/L}) = 7,97 + 1,08 \times 10^{-3} \text{Dosis } (\text{mg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{min})$.

Puede observarse en la tabla que, en general, la concentración del indicador disminuyó, siendo la disminución media obtenida del 57%, muy superior a la del 38% anteriormente citada para los metabolitos. Además esta reducción es similar a la hallada en el caso de la determinación de estireno en aire exhalado.

Tabla 8.11 Dosis externa recibida, concentración de estireno en orina encontrada y concentración de estireno en orina calculada a partir de la recta de regresión para aquellos individuos que emplearon medios de protección.

Dosis ($\text{mg} \cdot \text{min} \cdot \text{m}^{-3}$) $\times 10^{-3}$	EO experimental (mg/L)	EO calculada (mg/L)
3,57	3,1	11,83
29,29	7,1	39,61
17,51		26,88
22,78	9,0	32,57
4,35	3,7	12,66
31,92	9,4	42,44
28,94	12,4	39,23
18,53	4,1	27,98
17,88	5,5	27,28
5,55	3,2	13,97

En definitiva, la medida de la excreción urinaria de estireno sin modificar es un indicador de exposición representativo de la exposición laboral a disolventes y ofrece como ventajas respecto a otros indicadores que es una técnica no invasiva, es específica y está menos afectada por la variabilidad interindividual que la determinación de los metabolitos urinarios. Además permite evaluar exposiciones correspondientes a periodos inferiores a 8 horas.

8.4.4 Evaluación de los indicadores biológicos

En la Tabla 8.12 se resumen los resultados del análisis de regresión entre dosis externa y concentración de los indicadores biológicos estudiados. La dosis externa recibida se utiliza como variable independiente y cada uno de los distintos indicadores biológicos medidos como variable dependiente. En dicha tabla se presentan las ecuaciones de las rectas obtenidas, los coeficientes de correlación lineal y el número total de parejas de datos que contribuyeron al análisis. Así mismo, se presentan los límites de confianza al 95% obtenidos para los valores de dosis correspondientes a una exposición de 8 horas a la concentración ambiental de estireno de 213 mg/m³ (antiguo valor TLV de la ACGIH) y con una exposición de 8 horas a la concentración ambiental de 86 mg/m³ (VLA).

Tabla 8.12 Resultados de correlación y límites de confianza para valores de dosis significativos.

Indicadores biológicos	N	Recta de regresión	R	Límites de confianza al 95% para 213 mg/m ³ 8 horas	Límites de confianza al 95% para el VLA de 86 mg/m ³ 8 horas
MA en orina ^a	71	MA=67,1+8,61 x 10 ⁻³ dosis ^b	0,631	728-1167	352-493
PGA en orina ^a	90	PGA=73,7+3,38 x 10 ⁻³ dosis ^b	0,525	319-521	180-246
MA+PGA en orina ^a	92	MA+PGA=111,9+10,91 x 10 ⁻³ dosis ^b	0,629	983-1472	482-643
AEF ^c	97	AEF= 0,275+ 0,148 x 10 ⁻³ dosis ^{b,d}	0,787	13,2-17,7	5,6-7,2
EO ^e	96	EO=7,971+1,080 x 10 ⁻³ dosis ^b	0,828	106-131	48-57

^a mg/g creatinina; ^b mg.min.m³; ^c mg/m³; ^d recta para retención >0,95; ^emg/L

MA (Ácido mandélico), PGA (Ácido fenilgloxílico), MA+PGA (Suma de los ácidos mandélico y fenilgloxílico),

AEF (Estireno en aire exhalado final), EO (Estireno en orina)

En todos los casos las correlaciones obtenidas son estadísticamente significativas, sin embargo es preciso resaltar la importancia que tiene el valor del coeficiente de correlación cuando se pretende utilizar estas rectas de regresión lineal para estimar un valor límite biológico en función del valor límite ambiental. Cuanto mayor sea el valor del coeficiente de correlación, más

estrecho será el intervalo de confianza y por tanto, también será menor la incertidumbre de la evaluación de la dosis interna.

En este sentido, los indicadores biológicos basados en la determinación del estireno sin metabolizar en orina (EO) y en aire exhalado (AEF), presentan un intervalo de confianza mucho más reducido que los metabolitos urinarios (MA y PGA). Esto se debe a que estos indicadores están mucho menos afectados por la variabilidad interindividual asociada a los procesos bioquímicos de metabolización, y tampoco están influidos por posibles interferencias de carácter endógeno o exógeno que sí pueden afectar a los metabolitos urinarios, tales como la exposición simultánea a otros compuestos que metabolicen los mismos indicadores, como es el caso del etilbenceno, o por la ingesta de algunos fármacos (17,94).

Por otro lado, es muy improbable la presencia de estireno sin metabolizar en los medios biológicos en los que se realizan las determinaciones y, en cualquier caso, su abundancia relativa sería tan escasa que nunca podría constituir una interferencia en la determinación de la dosis debida a una exposición profesional. Así, se han encontrado niveles de concentración de estireno en sangre de personas no expuestas del orden de 0,22 µg/l (28), lo cual es insignificante frente a los 96 µg/l encontrados por estos autores en la sangre de individuos expuestos a estireno recogida 16 horas después del final de la exposición. Como las determinaciones de estireno en aire exhalado y orina reflejan indirectamente la concentración de este compuesto en sangre, los niveles anteriormente citados en población no expuesta, confirman la elevada especificidad de los indicadores biológicos basados en la determinación de estireno en orina y aire exhalado.

Según se ha señalado anteriormente, los indicadores biológicos basados en la determinación de estireno en aire exhalado y en orina se generan a partir de la concentración de estireno en sangre, por tanto, las concentraciones de estireno en ambos especímenes deben estar estrechamente ligadas. En la figura 8.21 se muestra gráficamente la correlación entre la concentración de estireno en orina (µg/L), como variable independiente y la concentración de estireno en aire exhalado (mg/m³) como variable dependiente. La relación entre ambas variables se ajusta a un modelo lineal cuya ecuación es:

$$\text{AEF (mg/m}^3\text{)} = 0,618 + 0,122 \text{ E0 (}\mu\text{g/L)}$$

El coeficiente de regresión obtenido (0,758) confirma la fuerte relación entre ambas variables.

La utilización como indicadores biológicos de los ácidos mandélico (MA) y fenilglioxílico (PGA), es objeto de controversia aunque sean los más utilizados hasta la fecha. Hay autores que proponen la utilización de MA al final de la jornada como indicador biológico (43) mientras que otros estiman que esta medida no siempre se relaciona linealmente con la concentración de estireno en el lugar de trabajo (42). Esta falta de linealidad puede ser debida a la variabilidad de las condiciones de exposición durante la jornada de trabajo o la variabilidad interindividual en la velocidad de metabolización de estireno. También se han aplicado modelos experimentales farmacocinéticos a la determinación de MA y PGA en orina y su relación con la dosis recibida (97).

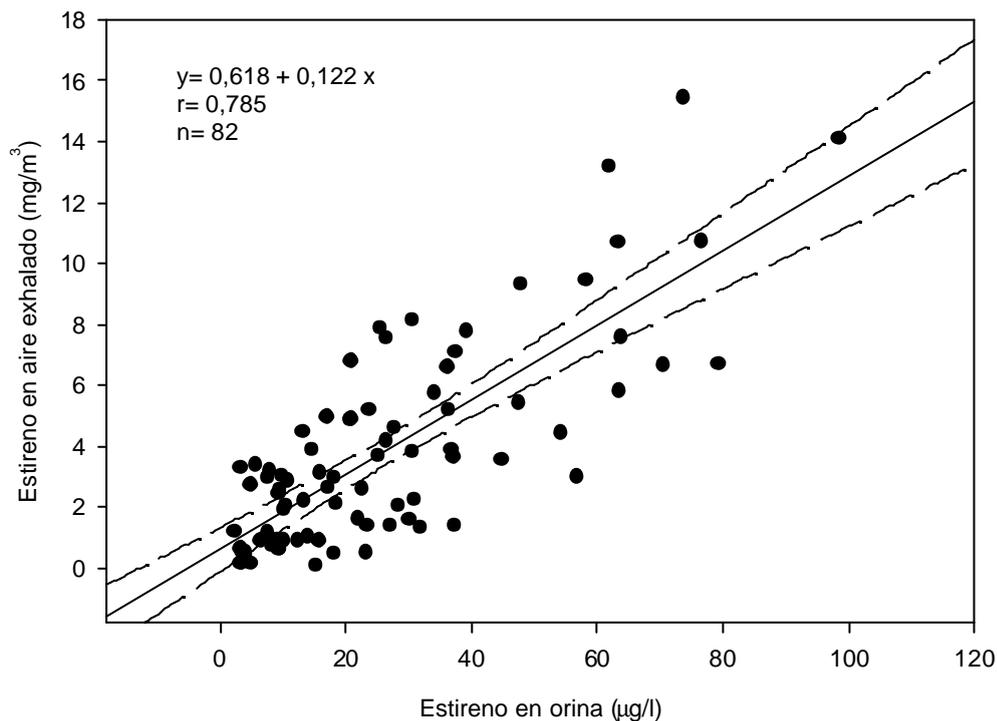


Figura 8.21 Recta de regresión entre la concentración de estireno en orina y la concentración de estireno en aire exhalado.

En relación con el momento en que se realiza la toma de muestras, estudios con voluntarios han mostrado que la determinación de MA en orina recogida inmediatamente después de la exposición proporcionaba una mejor correlación con la dosis absorbida (67,87).

Algunos estudios proponen utilizar en lugar de los metabolitos por separado la suma de ambos como indicador biológico de exposición (83), estas propuestas se basan en la relación existente entre MA y PGA, puesto que uno se forma por oxidación del otro. Con la suma de ambos metabolitos se obtienen buenos resultados de correlación con la dosis externa recibida, ya que la suma está menos influenciada por las diferencias en las velocidades individuales de metabolización (17,83). Para Ikeda y cols. la suma MA+PGA en orina de final de turno es el mejor indicador de la exposición a estireno (61) mientras que otros autores estiman que la medida de MA+PGA al inicio de la jornada de trabajo siguiente es el mejor indicador de exposición (37,42).

Sin embargo, la determinación de MA+PGA al comienzo del día siguiente al de la exposición presenta dos inconvenientes. En primer lugar que para poblaciones que reciban dosis inferiores a la equivalente al valor límite ambiental (semejantes a las halladas en este trabajo) es de esperar que los niveles de ambos metabolitos al comenzar una nueva exposición sean muy bajos o incluso nulos. En segundo lugar, que la velocidad de eliminación de MA y PGA puede verse afectada por las condiciones de temperatura y humedad relativa en el ambiente de trabajo, ya que se ha encontrado que a valores de estas variables relativamente altos, 30°C y 90% (semejantes a las que se encuentran en la región de Murcia durante primavera y verano) los tiempos de vida medios de ambos metabolitos son bajos y, por tanto, se detectan con mayor dificultad en el día siguiente del que tuvo lugar la exposición (41).

Otro factor indicativo de la disparidad de criterio en la aplicación de estos indicadores es la adopción de los valores límite en distintos países, tal como muestra la Tabla 8.13. Así se puede encontrar una gran diversidad en cuanto a los valores y especialmente en cuanto al momento del muestreo. Sin embargo, los valores de referencia ambientales actualmente adoptados en los países europeos se encuentran comprendidos en un margen estrecho, entre 85 y 105 mg/m³.

En cuanto al momento de la toma de muestra, la tendencia actual en algunos países europeos es que la muestra se tome en un día concreto de la semana, que suele ser el último, con el fin de normalizar las muestras e integrar el fenómeno de la acumulación.

De lo expuesto hasta ahora se deduce claramente que los indicadores biológicos de exposición laboral a estireno basados en la determinación de los metabolitos urinarios están sujetos a una mayor variabilidad. Este hecho también se ha puesto de manifiesto en este trabajo, puesto que los coeficientes de correlación obtenidos para el MA y el PGA en relación con la dosis externa,

son inferiores, tanto por separado como para la suma MA+PGA, a los obtenidos para los indicadores basados en la determinación del estireno sin metabolizar en orina y aire exhalado. Por tanto la evaluación de la dosis interna mediante la comparación con indicadores biológicos calculados a partir del valor límite ambiental utilizando la recta de regresión lineal, estará afectada por un mayor nivel de incertidumbre. Este hecho refuerza la necesidad de abordar el estudio de nuevos indicadores basados en la determinación de estireno, tanto en aire exhalado como en orina.

Tabla 8.13 Valores de referencia para MA y PGA en distintos países.

Organismo	INDICADOR	Valor	Momento de muestreo
ACGIH (BEI)	MA	300 mg/g creatinina	Al comienzo de la jornada
		800 mg/g creatinina	Al final de la jornada
	PGA	100 mg/g creatinina	Al comienzo de la jornada
		240 mg/g creatinina	Al final de la jornada
DFG (BAT)	MA+PGA	600 mg/g creatinina	Al final de la jornada del último día de la semana
Francia (IBE)	MA	300 mg/g creatinina	Al comienzo de la jornada
		800 mg/g creatinina	Al final de la jornada
	PGA	100 mg/g creatinina	Al comienzo de la jornada
		240 mg/g creatinina	Al final de la jornada
Suiza (VBT)	MA	400 mg/g creatinina	Al final de la jornada del último día de la semana
	MA+PGA	500 mg/g creatinina	Al final de la jornada del último día de la semana
Finlandia (BAL)	MA	2,9 mmol/l	Al final de la jornada del último día de la semana
	MA+PGA	1,2 mmol/l	Al inicio de la jornada del último día de la semana
España (VLB)	MA+PGA	600 mg/g creatinina	Al final de la jornada del último día de la semana

La determinación de disolventes en el aire exhalado se ha considerado un interesante indicador biológico de la exposición a los mismos debido a sus numerosas ventajas, tales como su especificidad, la sencillez de su análisis y la buena aceptación por la población laboral al tratarse de una técnica no invasiva. Sin embargo, la fijación de valores límite biológicos en este espécimen siempre ha estado muy condicionada por el procedimiento de toma de muestras utilizado, aire exhalado final o aire exhalado mezclado, o por el instante de recogida de la muestra, puesto que en la fase de eliminación rápida el momento de muestreo puede ser crítico.

De hecho, la ACGIH fijó límites biológicos para estireno en aire exhalado mezclado durante el turno y antes del siguiente turno en el año 1989-1990 (98) condicionando su utilización a reproducir la metodología y estrategia desarrollada en los estudios que fundamentaban la adopción de este valor

límite. Sin embargo en la revisión correspondiente a 1991-92 (99) y en las sucesivas ya no aparecen límites biológicos para estireno en aire exhalado. Algo similar ha venido ocurriendo con otros disolventes orgánicos, y en todos los casos el factor que ha condicionado estas decisiones ha sido la dificultad para normalizar procedimientos de toma de muestra y análisis. En 1992, el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo desarrolló el protocolo de validación de captación y análisis de muestras de disolventes en aire exhalado que se ha utilizado en este trabajo, como una contribución a normalizar la toma de muestras de aire exhalado (100).

La determinación de compuestos sin metabolizar en orina como indicadores biológicos de exposición laboral ha experimentado un interés creciente en los últimos años, sobre todo a medida que se han desarrollado metodologías analíticas capaces de cuantificar las bajas concentraciones que se eliminan por esta vía. La metodología desarrollada y validada en este estudio para la determinación de estireno en orina, permite utilizar este indicador biológico con la garantía que ofrece el riguroso proceso de validación a que se ha sometido el procedimiento analítico.

Tanto para la determinación de estireno en orina y aire exhalado, como para la determinación de los metabolitos urinarios del estireno, se han utilizado en este trabajo procedimientos analíticos y estrategias de muestreo que han sido desarrolladas y validadas con rigor científico para minimizar los errores que puedan estar asociados a las determinaciones realizadas para estimar la dosis interna. Idéntico criterio se ha seguido en los procedimientos de toma de muestras y análisis de estireno en aire utilizados para estimar la dosis externa mediante la determinación de la concentración ambiental de estireno, ya que los procedimientos que se han utilizado han sido validados de acuerdo con protocolos específicos asegurando una incertidumbre global muy por debajo de los valores admitidos para la evaluación de niveles ambientales. Además, la robustez de las determinaciones ambientales realizadas se refuerza por el hecho de haber realizado el muestreo ambiental simultáneamente con dos procedimientos pasivos y un procedimiento dinámico, utilizando el valor medio de las concentraciones calculadas por los mismos como el mejor estimador de la concentración media ambiental a lo largo del periodo de exposición, una vez verificado que no existían diferencias estadísticamente significativas entre los tres procedimientos de toma de muestra.

Todo ello ha contribuido a conseguir la buena correlación lograda entre la dosis externa, estimada a partir de los niveles ambientales de estireno en aire y la dosis interna, estimada a partir de los niveles de los distintos indicadores

biológicos estudiados. Esto permite proponer valores límite biológicos basados en los valores límite ambientales. Para ello, se calculó la dosis equivalente a una exposición de 8 horas a un nivel de concentración de 86 mg/m³, que es el VLA adoptado para el estireno en España. El valor de la dosis equivalente es de 41,3 x 10³ mg.m⁻³.min. A partir de este valor de dosis, y utilizando las rectas de regresión que se presentan en la Tabla 8.12 se calcula el valor equivalente para cada uno de los indicadores biológicos estudiados. Sin embargo el valor límite biológico propuesto es el correspondiente al límite inferior del intervalo de confianza al 95%.

La recta de regresión utilizada para el aire exhalado es la correspondiente a exposiciones a concentraciones fluctuantes (apartado 8.4.2) ya que, por un lado son muy habituales en ambientes laborales y, por otro, la utilización de esta recta conducirá a un valor límite que protegerá en mayor medida la salud de los trabajadores.

En la Tabla 8.14 se presenta, tanto los valores obtenidos directamente a partir de la dosis equivalente al valor límite ambiental de estireno, como los valores límite biológicos (VLB) propuestos para cada uno de los indicadores biológicos estudiados.

Tabla 8.14 Valores límite propuestos para los indicadores biológicos de exposición a estireno.

INDICADOR BIOLÓGICO	Valor obtenido a partir de la dosis equivalente a VLA ⁽¹⁾	VLB propuesto (final de la jornada de trabajo) ⁽²⁾
Estireno aire exhalado final	6,4 mg/m ³	5,6 mg/m ³
Estireno en orina	53 µg/L	48 µg/L
PGA en orina	213 mg/g creatinina	180 mg/g creatinina
MA en orina	423 mg/g creatinina	352 mg/g creatinina
MA+PGA en orina	562 mg/g creatinina	482 mg/g creatinina

⁽¹⁾ Valor obtenido directamente de la recta de regresión y correspondiente a una dosis equivalente al valor límite ambiental de estireno (86 mg/m³) para 8 horas.

⁽²⁾ Valor correspondiente al límite inferior del intervalo de confianza al 95%, para una dosis equivalente al valor límite ambiental de estireno (86 mg/m³) para 8 horas

Antes de analizar los valores límite biológicos propuestos para cada uno de los indicadores biológicos con referencia a los que están adoptados oficialmente por instituciones públicas o privadas, se debe tener en cuenta que, en muchos casos, esos valores límite adoptados son la traslación literal de los que previamente habían sido fijados por organizaciones que tienen un reconocido prestigio en el estudio y análisis de los trabajos experimentales que los sustentan científicamente. Entre estas instituciones cabe destacar la ACGIH, que adopta los valores BEI (48) y la DFG, que adopta los valores BAT (101), por ello no es de

extrañar que muchos países tengan valores prácticamente idénticos, por ejemplo, el VLB adoptado por España para la suma de MA+PGA de 600 mg/g creatinina, se corresponde con el valor BAT alemán, sin que se hayan realizado estudios específicos sobre la población a la que se van a aplicar.

Los estudios experimentales, similares a los realizados en este trabajo, son los que fundamentan la adopción de valores límite biológicos y por tanto, si estos valores se estiman a partir de estudios realizados en la misma población a la que aplicarán, tienen el valor añadido de no estar afectados por otros factores tales como los hábitos sociales, la dieta alimenticia, e incluso las características morfológicas.

En cualquier caso, de los valores propuestos en este trabajo, únicamente los correspondientes a metabolitos urinarios podrían ser comparables con valores límite adoptados por otros países. Así, el VLB propuesto para MA+PGA de 482 mg/g creatinina, es similar al valor límite VBT recomendado en Suiza cuyo valor es de 500 mg/g creatinina, que también está basado en un límite ambiental de 86 mg/m³. Sin embargo, es inferior al VLB adoptado en España, cuyo valor es de 600 mg/m³ (48) aunque, tal y como se ha indicado anteriormente, este valor se ha fijado adoptando directamente el valor BAT.

En el caso del MA, si analizamos el valor propuesto en este trabajo de 352 mg/g creatinina con los adoptados por otros países, éste está más próximo al de 400 mg/g creatinina recomendado en Suiza que al de 441 adoptado por Finlandia como BAL (101).

Si se establece una comparación entre los valores calculados directamente a partir de la recta de regresión para dosis equivalentes a exposiciones durante 8 horas a un valor límite de 86 mg/m³ de estireno, que son los que se reflejan en la Tabla 8.14, el valor de MA+PGA, 562 mg/g creatinina, es prácticamente idéntico al calculado mediante la regresión obtenida por Pekari y cols., que resulta ser de 574 mg/g creatinina (42). Algo similar sucede en el caso del MA, ya que el valor de 423 mg/g creatinina obtenido en este trabajo es similar al de 444 mg/g creatinina obtenido a partir de la recta de Ghittori y cols. (43) y algo superior al de 301, obtenido a partir de las experiencias de Mizunuma y cols. (103).

No se puede establecer una comparación entre los VLB propuestos en este trabajo con aquellos que se han establecido en función de otros valores límite ambientales, sin embargo se pueden comparar los que resultarían tras calcular

un valor equivalente al mismo valor límite con nuestra recta de regresión. Así, calculando los valores correspondientes a una dosis equivalente al valor límite de 213 mg/m³ durante 8 horas (102,2 x 10³ mg.m⁻³.min), para MA+PGA se obtiene un valor de 983 mg/g creatinina que es similar al de 1040 mg/g creatinina, adoptado en los valores BEI de la ACGIH (49) y a los calculados a partir de las rectas de regresión obtenidas en estudios experimentales similares a este, llevados a cabo por Ong y cols. (29), cuyo valor es de 1042 y por Guillemin y Berode (17), cuyo valor es de 1020 mg/g creatinina.

De igual forma sucede para el PGA, puesto que si se calcula el VLB que corresponde a la exposición durante 8 horas a una concentración equivalente al valor límite ambiental de 213 mg/m³, el valor obtenido es de 318 mg/g creatinina, mientras que el BEI de la ACGIH es de 240 mg/g creatinina. En el caso del MA, el valor obtenido utilizando la recta resulta ser de 728 mg/g creatinina, que es bastante similar al de 800 mg/g creatinina adoptado por la ACGIH como BEI (49).

Finalmente, en relación con los metabolitos urinarios de estireno, cabe destacar que el indicador MA+PGA ha sido el que mayor concordancia ha presentado, tanto con los valores adoptados por otros países e instituciones, como con los propuestos por otros autores. Este hecho es importante si tenemos en cuenta que la utilización de la suma de MA+PGA contribuye a minimizar las diferencias interindividuales por lo que está considerado como el mejor indicador metabólico de la exposición a estireno.

Los valores límite propuestos para los indicadores estireno en aire exhalado y estireno en orina no se pueden comparar con valores adoptados, puesto que no los hay. Sin embargo, si se pueden comparar con los calculados, para dosis equivalentes al valor límite ambiental de 86 mg/m³, según las rectas de regresión publicadas por diversos autores.

Para estireno en aire exhalado, el valor calculado a partir de la recta de regresión al final de una exposición de 86 mg/m³ de estireno durante 8 horas es el expuesto en la Tabla 8.14. Este valor, que es de 6,4 mg/m³, se ha obtenido utilizando la recta de regresión correspondiente a exposiciones a concentraciones variables, que se expuso en el apartado 8.4.2. A partir de las rectas de regresión obtenidas por otros autores en trabajos similares se han obtenido valores de 7,2 mg/m³, en un trabajo con voluntarios llevado a cabo por Petreas y cols. (18). Sin embargo, las tareas que se realizaban en este trabajo se asemejaban más a una exposición constante, puesto que se

intentaba mantener una exposición controlada a lo largo de todo el periodo de exposición y si utilizásemos la recta de regresión obtenida en nuestro trabajo para exposiciones constantes, el valor que se obtendría es mayor. Para el caso de estudios llevados a cabo en poblaciones que realizaban tareas que implicaban una exposición fluctuante, los valores obtenidos mediante el estudio realizado por Ong y cols. (29) serían de 5,20 mg/m³ y el correspondiente al estudio llevado a cabo por Fields y cols. (86), 5,23 mg/m³, ambos ligeramente inferiores a los calculados según nuestra recta.

Por otro lado, si se calcula el valor equivalente a una dosis de 213 mg/m³ durante 8 horas, que es el utilizado por Perbellini y cols. (104) en el desarrollo de un modelo matemático, nuestro valor resulta ser de 15,4 mg/m³ y el del citado modelo oscila entre 15,5 y 19,9 mg/m³, lo que indica una gran concordancia.

El valor límite propuesto para estireno no metabolizado en orina, tampoco se puede comparar con valores límite adoptados. Sin embargo, al igual que en el caso del aire exhalado, también se pueden comparar los valores con los calculados para dosis equivalentes, utilizando las rectas de regresión publicadas por diversos autores.

Para estireno en orina, el valor calculado a partir de la recta de regresión al final de una exposición de 86 mg/m³ durante 8 horas es el expuesto en la Tabla 8.14. Si comparamos este valor de 53 µg/L, con los calculados para dosis externas similares según las rectas de regresión propuestas por diversos autores, resulta muy similar al de 55 µg/L de Ong y cols (29), 55 µg/L de Imbriani y cols. (33) y 58 µg/L de Gobba y cols. (32). A partir de los trabajos de otros autores se obtienen valores de 71 µg/L (23), 75 µg/L (30) o 74 µg/L (31), sin embargo según la estrategia de muestreo seguida en estos últimos, se ha podido incrementar la dosis interna debido a la acumulación de estireno procedente de exposiciones anteriores a la evaluada el día de la toma de muestra biológica. Este hecho puede justificar las diferencias halladas entre ambas series de valores.

En definitiva, para los indicadores biológicos basados en la determinación de estireno en aire exhalado y en orina, la comparación de los valores obtenidos en este trabajo para dosis equivalentes al VLA para una exposición de 8 horas, con los correspondientes a estimaciones basadas en trabajos experimentales similares, sugieren un elevado grado de concordancia, sobre todo en aquellos en los que la metodología y estrategia de muestreo son más similares. Este hecho, junto con la ausencia de valores límite adoptados, justifica plenamente la propuesta de valores límite biológicos (VLB) para estos indicadores. Además,

los elevados índices de correlación obtenidos entre los indicadores y la dosis externa, permiten evaluar la dosis interna mediante estos valores límite, con una incertidumbre mínima.

La utilización práctica de los valores límite propuestos está muy condicionada por la constante evolución de los procesos de producción, que tienen una repercusión importante en los procedimientos utilizados para evaluar los riesgos inherentes a las nuevas condiciones de exposición laboral a contaminantes químicos.

En este sentido, la estimación de la dosis mediante la comparación de las concentraciones ambientales o biológicas con valores límite de referencia, cuando las exposiciones no se extienden a lo largo de toda la jornada laboral, están afectadas por factores que condicionan la misma, aunque estos factores sean conceptualmente diferentes en el caso de la dosis externa y de la dosis interna.

En el caso de la dosis externa, la corrección debida a exposiciones de duración inferior a la jornada de trabajo de 8 horas diarias y 40 horas semanales, para la cual se establece el valor límite VLA-ED, se realiza mediante el cálculo de la exposición diaria (ED) según la expresión recogida en el documento sobre valores límite en España del INSHT (48). Esta expresión calcula el valor medio de la concentración ponderado en el tiempo, mediante el sumatorio del producto de la concentración y el tiempo de exposición de cada uno de los periodos a que el sujeto ha estado expuesto dividido por 8 horas, que es el tiempo de exposición para el que está fijado el valor límite. Es decir, en términos de dosis, lo que se calcula mediante la exposición diaria (ED) es la dosis externa real a que ha estado expuesto el sujeto, para compararla con la dosis máxima a que puede estar expuesto durante 8 horas, que viene determinada por el valor límite VLA-ED. Por tanto, siempre que se determinen adecuadamente los periodos de exposición, la estimación de la dosis externa total se obtendrá como el sumatorio de las dosis parciales que, a su vez, se obtienen únicamente mediante la determinación de los niveles de concentración ambiental del contaminante en cada uno de los periodos de exposición, sin que esta venga afectada por ningún otro factor de tipo personal.

Para estimar la dosis interna, además de los factores dependientes de las condiciones concretas de la exposición, también se deben tener en cuenta los factores derivados de la toxicocinética de los compuestos químicos en el

organismo, y más concretamente los que determinan su eliminación en los especímenes biológicos en los que se realicen las determinaciones de los mismos. Por ello, los valores límite biológicos (VLB) siempre hacen mención al momento de la toma de muestra puesto que, en general, éste va a condicionar la concentración del determinante biológico, sobre todo en aquellos casos en que la eliminación se realiza por varias vías y la tasa de eliminación por cada una de ellas, depende de la velocidad de aclaramiento o de la acumulación en cada uno de los compartimentos biológicos en los que se puedan hallar los determinantes biológicos analizados. Por ello, la aplicación de los valores límites biológicos para estimar la dosis diaria está siempre condicionada a un determinado momento de toma de muestra que, generalmente es el final de la jornada de trabajo.

Se debe señalar la importancia que tiene en este caso la diferencia conceptual entre exposición y jornada de trabajo. Si la exposición tiene lugar a lo largo de toda la jornada de trabajo, de forma más o menos constante, el control biológico realizado al final de la misma es representativo de la dosis recibida durante toda la exposición, puesto que ambos periodos son coincidentes. Pero cuando el periodo de exposición es inferior a la jornada de trabajo, la dosis recibida durante el mismo, estimada a partir de los valores de concentración del determinante en el fluido biológico de final de la jornada, no solo dependerá de la dosis externa recibida sino también del momento en que esta exposición haya tenido lugar dentro de la jornada de trabajo. Así, cuando el final de la exposición coincida con el final de la jornada de trabajo, las determinaciones biológicas realizadas en ese momento se podrán comparar con los valores límite biológicos establecidos para el final de la jornada de trabajo. Sin embargo, cuando el final de la exposición no coincide con la finalización de la jornada de trabajo, es decir, cuando el periodo de exposición real solamente ocupa una parte de la misma, la toma de muestras al final de la jornada supondría subestimar la dosis interna.

Las experiencias desarrolladas han demostrado que para una evaluación adecuada de la dosis interna en exposiciones inferiores a la jornada completa, que, por otro lado, son cada vez más habituales en la organización del trabajo en pequeñas y medianas empresas, las muestras han de recogerse al final de la exposición, coincida o no con el final de la jornada, si bien su comparación se puede realizar con los valores límite propuestos para dosis equivalentes a periodos de exposición de 8 horas.

8.5 Bibliografía

- 1 Tossavainen A. Styrene use and occupational exposure in the plastic industry. *Scand. J. Work Environ. & Health* 4(2): 7-13. 1978.
- 2 Löf A., Lundgren E., Byfält Nordqvist M. Kinetics of styrene in workers from a plastics industry after controlled exposure: a comparison with subjects not previously exposed. *Brit. J. Ind. Med.* 43: 537-543. 1986.
- 3 Wigaeus E., Löf A., Bjurström R., Byfält Nordqvist M. Exposure to styrene. Uptake, distribution, metabolism and elimination in man. *Scand. J. Work Environ. & Health* 9: 479-488. 1983.
- 4 Wong O. A cohort mortality study and a case control study of workers potentially exposed to styrene in the reinforced plastics and composite industry. *Br. J. Ind. Med.* 47: 753-762. 1990.
- 5 Gobba F., Cavalleri F., Bontadi D., Torri P., Dainese R. Peripheral neuropathy in styrene-exposed workers. *Scand. J. Work Environ. & Health* 21: 517-520. 1995.
- 6 Campagna D., Mergler D., Huel G., Bélanger S., Truchon G., Ostiguy C., Drolet D. Visual dysfunction among styrene-exposed workers. *Scand. J. Work Environ. & Health* 21: 382-90. 1995.
- 7 I.A.R.C. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans: some industrial chemicals. *IARC, Lyon France vols 1 to 42, suppl.7, p.345.* 1987.
- 8 U.S. Department of Health and Human Services. Toxicological profile for styrene. *Department of health & human services, USA, TP-91/25.* 1992.
- 9 Hallier E., Goergens H.W., Hallier K., Bolt H.M. Intervention study on the influence of reduction of occupational exposure to styrene on sister chromatid exchanges in lymphocytes. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 66: 167-172. 1994.
- 10 Artuso M., Angotzi G., Bonassi S., Bonatti S., De Ferrari M., Gargano D., Lastrucci L., Miligi L., Sbrana C., Abbondandolo A. Cytogenetic biomonitoring of styrene-exposed plastic boat builders. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 29: 270-274. 1995.
- 11 Lowry L.K. Biological exposure index as a complement to the TLV. *J. Occup. Med.* 28(8): 578-588. 1986.
- 12 Teass A.W., Biagini R.E., Debord D.G., Hull R.D. Application of Biological Monitoring Methods. En *Manual of Analytical Methods. NIOSH, Washington D. C., USA.* 1998.
- 13 Wilson H.K. Biological Monitoring values for occupational exposure: a United Kingdom perspective. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 72: 274-278. 1999.

- 14 Gobba F., Ghittori S., Imbriani M., Cavalleri A. Evaluation of half-mask respirator protection in styrene exposed workers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 73: 56-60. 2000.
- 15 Löf A., Brohede C., Gullstrand E., Lindström K., Sollenberg J., Wrangskog K., Hagberg M., Hedman B.K. The effectiveness of respirators measured during styrene exposure in a plastic boat factory. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 65: 29-34. 1993.
- 16 World Health Organization. Biological monitoring of chemical exposure in the workplace. Cap 4: Selected solvents. *World Health Organization, Geneva, Italy*. 1996.
- 17 Guillemin M.P., Berode M. Biological monitoring of styrene: a review. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 49(10): 497-505. 1988.
- 18 Petreas M.X., Woodlee J., Becker C.E., Rappaport S.M. Retention of styrene following controlled exposure to constant and fluctuating air concentrations. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 67: 27-34. 1995.
- 19 Dutkiewicz T., Tyras H. Skin absorption of toluene, styrene and xylene in man. *Brit. J. Indus. Med.* 25: 243. 1968.
- 20 A.C.G.I.H. BEI: Biological Exposure indices for 1989-1990 TLV-BEI Documentation. *ACGIH, Cincinnati, Ohio USA*. 1989.
- 21 Fernandez J., Caperos J.R. Exposition au styrène I. Etude expérimentale de l'Absorption et de l'excrétion pulmonaire chez des sujets humains. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 40: 1-12. 1977.
- 22 Engström J., Bjurström R., Astrand I., Övrum P. Uptake, distribution and elimination of styrene in man. *Scand. J. Work Environ. & Health* 4: 315-323. 1978.
- 23 Pezzagno G., Ghittori S., Imbriani M., Capodaglio E. Urinary elimination of styrene in experimental and occupational exposure. *Scand. J. Work Environ. & Health* 11: 371-379. 1985.
- 24 Astrand I., Kilbom A., Övrum P., Wahlberg I., Vesterberg, O. Exposure to styrene I. Concentration in alveolar air and blood at rest and during exercise and metabolism. *Work Environ. Health* 11: 69-85. 1974.
- 25 Brugnone F., Perbellini L., Faccini G.B., Pasini F., Maranelli G., Romeo L., Gobbi M., Zedde A. Breath and blood levels of benzene, toluene, cumene and styrene in non-occupational exposure. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 61: 303-311. 1989.
- 26 Kawai T., Yasugi T., Mizunuma K., Horiguchi S., Morioka I., Miyashita K., Uchida Y., Ikeda M. Monitoring of workers exposed to a mixture of toluene, styrene and methanol vapours by means of diffusive air sampling, blood analysis and urinalysis. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 63: 429-435. 1992.

- 27 Kawai T., Yasugi T., Mizunuma K., Horiguchi S., Iguchi H., Uchida Y., Iwami O., Ikeda M. Comparative evaluation of urinalysis and blood analysis as means of detecting exposure to organic solvents at low concentrations. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 64: 223-234. 1992.
- 28 Brugnone F., Perbellini L., Wang G.Z., Maranelli G., Raineri E., De Rosa E., Saletti C., Soave C., Romeo L. Blood styrene concentrations in a "normal" population and in exposed workers 16 hours after the end of the work shift. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 65: 125-130. 1993.
- 29 Ong C.N., Shi C.Y., Chia S.E., Chua S.C., Ong H.Y., Lee B.L., Ng T.P., Teramoto K. Biological monitoring of exposure to low concentrations of styrene. *Am. J. Ind. Med.* 25: 719-730. 1994.
- 30 Ghittori S., Imbriani M., Pezzagno G., Capodaglio E. The urinary concentration of solvents as a biological indicator of exposure: proposal for the biological equivalent exposure limit for nine solvents. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 48: 786-790. 1987.
- 31 Perbellini L., Romeo G., Maranelli G., Zardini G., Alexopoulos C., Brugnone F. Biological Monitoring of Fluctuating Occupational Exposures to Styrene. *Med. Lav.* 81,5: 382-389. 1990.
- 32 Gobba F., Galasi M., Ghitori S., Imbriani M., Pugliese F., Cavalleri A. Urinary styrene in the biological monitoring of styrene exposure. *Scand. J. Work Environ. & Health* 19: 175-182. 1993.
- 33 Imbriani M., Gobba F., Ghittori S., Di Rico R., Piscitelli M., Capodaglio E., Cavalleri A. Biological Monitoring of Occupational Exposure to Styrene. *Appl. Occup. Environ. Hyg.* 5(4): 223-228. 1990.
- 34 Brugnone F., Perbellini L., Gaffuri E., Apostoli P. Biomonitoring of industrial solvent exposures in workers' alveolar air. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 47: 245-251. 1980.
- 35 Rappaport S.M., Kure E., Petreas M., Ting D., Woodlee J. A field method for measuring solvent vapours in exhaled air- application to styrene exposure. *Scand. J. Work Environ. & Health* 17: 195-204. 1991.
- 36 Guillemin M.P., Bauer D. Biological monitoring of exposure to styrene by analysis of combined urinary mandelic and phenylglyoxylic acids. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 39: 873-879. 1978.
- 37 Wilson H.K., Cocker J., Purnell C.J., Brown R.H., Gompertz D. The time course of mandelic and phenylglyoxylic acid excretion in workers exposed to styrene under model conditions. *Brit. J. Indus. Med.* 36: 235-237. 1979.
- 38 Sollenberg J., Bjurström R., Wrangskog K., Vesterberg O. Biological exposure limits estimated from relations between occupational styrene exposure during a

- workweek and excretion of mandelic and phenylglyoxylic acids in urine. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 60: 365-370. 1988.
- 39 Kivistö H., Pekari K., Aitio A. Analysis and stability of phenylglyoxylic and mandelic acids in the urine of styrene-exposed people. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 64: 399-404. 1993.
- 40 Mürer A.J.L., Christensen J.M., Midtgaard T. Determination of the urinary metabolites of styrene: Estimation of the method evaluation function and evaluation of reference values in Danish subjects. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 65: 313-318. 1994.
- 41 Shi C.Y., Chua S.C., Lee B.L., Ong H.Y., Jeyaratnam J., Ong C.N. Kinetics of styrene urinary metabolites: A study in a low-level occupational exposure setting in Singapore. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 65: 319-323. 1994.
- 42 Pekari K., Nylander-French L., Pfäffli P., Sorsa M., Aitio A. Biological Monitoring of Exposure to Styrene- Assessment of Different Approaches. *J. Occup. Med. Toxicol.* 2(2): 115-126. 1993.
- 43 Ghittori S., Maestri L., Imbriani M., Capodaglio E., Cavalleri A. Urinary excretion of specific mercapturic acids in workers exposed to styrene. *Am. J. Ind. Med.* 31: 636-644. 1997.
- 44 I.N.S.H.T. Límites de Exposición Profesional para Agentes Químicos en España. 1999-2000. *INSHT, Madrid.* 1999.
- 45 A.C.G.I.H. Threshold limit values (TLVs) for chemical substances and physical agents and biological exposure indices (BEIs). *ACGIH, Cincinnati, Ohio USA.* 1997.
- 46 Geuskens R.B.M., Van Der Klaauw M.M., Van Der Tuin J., Van Hemmen J.J. Exposure to styrene and health complaints in the Dutch glass-reinforced plastics industry. *Ann. Occup. Hyg.* 36(1): 47-57. 1992.
- 47 Lenvik K., Osvoll P.O., Woldbaek T. Occupational exposure to styrene in Norway, 1972-1996. *Appl. Occup. Environ. Hyg.* 14: 165-170. 1999.
- 48 I.N.S.H.T. Límites de Exposición Profesional para Agentes Químicos en España. 2001-2002. *INSHT, Madrid.* 2001.
- 49 A.C.G.I.H. Threshold limit values (TLVs) for chemical substances and physical agents and biological exposure indices (BEIs). *ACGIH Cincinnati, Ohio USA.* 2000.
- 50 Science and Technology for Environmental Protection. Biomonitoring of Human Populations Exposed to Genotoxic Environmental Chemicals. *EV4V-0179-DK.* 1991.
- 51 Rosemberg J., Fiserova-Bergerova V., Lowry L.K. Biological Monitoring IV: Measurements in urine. *Appl. Ind. Hyg.* 4: F16-F20. 1989.

- 52 I.N.S.H.T. Determinación de los ácidos fenilglicólico, mandélico, hipúrico y orto y para- metilhipúrico en orina. Método de fase reversa con detector de ultravioleta / cromatografía líquida de alta resolución. *INSHT, Barcelona MTA/MB – 022/A95*. 1995.
- 53 Marcuello D., Castellón J.M., Periago J.F. Exposición laboral a estireno en la fabricación de plásticos reforzados con fibra de vidrio. *Salud y Trabajo 109: 19-24*. 1995.
- 54 Bartolucci G.B., Perbellini L., Gori G.P., Brugnone F., De Rosa E. Field Comparison of charcoal tubes and passive dosimeters for the determination of solvents in air.. *En Berlin A., Brown R.H., Saunders K.J., (ed.) Diffusive sampling. An alternative approach to workplace air monitoring. Royal Society of Chemistry, London 228-230*. 1987.
- 55 Jensen B., Mürer A.J.L., Olsen E., Christensen J.M. Assesment of long-term styrene exposure: a comparative study of a logbook method and biological monitoring. *Int. Arch. Occup. Environ. Health 66: 399-405*. 1995.
- 56 De Rosa E., Cellini M., Sessa G., Saletti C., Rausa G., Marcuzzo G., Bartolucci G.B. Biological monitoring of workers exposed to styrene and acetone. *Int. Arch. Occup. Environ. Health 65: S107-S110*. 1993.
- 57 Nylander-French L.A., Kupper L.L., Rappaport S.M. An investigation of factors contributing to styrene and styrene-7,8-oxide exposures in the reinforced-plastics industry. *Ann. Occup. Hyg. 43: 99-109*. 1999.
- 58 Brown R.H., Saunders K.J., Walkin K.T. A personal sampling method for the determination of styrene exposure. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 48(9): 760-765*. 1987.
- 59 Galassi C., Kogevinas M., Ferro G., Biocca M. Biological monitoring of styrene in the reinforced plastics industry in Emilia Romagna, Italy. *Int. Arch. Occup. Environ. Health 65: 89-95*. 1993.
- 60 Crandall M.S., Hartle R.W. An analysis of exposure to styrene in the reinforced plastic boat-making industry. *Am. J. Ind. Med. 8: 183-192*. 1985.
- 61 Ikeda M., Koizumi A., Miyasaka M., Watanabe T. Styrene exposure and biological monitoring in FRP boat production plants. *Int. Arch. Occup. Environ. Health 49: 325-339*. 1982.
- 62 Kalliokoski P.J., Säämänen A.J., Ivalo L.M., Kokotti H.M. Exposure to styrene can be controlled. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 49: 6-9*. 1988.
- 63 Rosen G., Andersson I.M., Juringe L. Control of styrene exposure in fiberglass boatbuilding industry. *En Pezzini Editore "Atti del convegno. Rischi e bonifiche nella costruzione di imbarcazioni in vetroresina". Viareggio, Italia Vol I 29-34*. 1992.
- 64 Calletti E., Farina M. Valutazione di una esperienza di bonifica ambientale con "tunnel" aspirati. *En Pezzini Editore "Atti del convegno. Rischi e bonifiche nella costruzione di imbarcazioni in vetroresina". Viareggio, Italia Vol I 207-212*. 1992.

- 65 Hopkins B., Conard R.J., Smith M.J. Effective and reliable behavioural control technology. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 47 (12) 785-791. 1986.
- 66 Jenkins Sumner S., Fennell T.R. Review of the metabolic fate of styrene. *Crit. Rev. Toxicol.* 24(S1): S11-S33. 1994.
- 67 Wilson H. K., Robertson S. M., Waldron H. A., Gompertz D. Effect of alcohol on the kinetics of mandelic acid excretion in volunteers exposed to styrene vapour. *Brit. J. Indus. Med.* 40: 75-80. 1983.
- 68 Ikeda M., Hirayama T. Possible metabolic interaction of styrene with organic solvents. *Scand. J. Work Environ. & Health* 4(2): 41-46. 1978.
- 69 Dolaro P., Lodovici M., Salvadori M., Santoni G., Caderni G., Buiatti E. Y Bavazzano P. Enzyme induction in humans exposed to styrene. *Ann. Occup. Hyg.* 27(2): 183-188. 1983.
- 70 Marhuenda D., Prieto M., Periago J.F., Perbellini J., Cardona A. Biological Monitoring of styrene exposure and possible interference of acetone co-exposure. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 69: 455-460. 1997.
- 71 De Rosa E., Cellini M., Sessa G., Scapellato M.L., Marcuzzo G., Bartolucci G.B. The importance of sampling time and coexposure to acetone in the biological monitoring of styrene-exposed workers. *Appl. Occup. Environ. Hyg.* 11(5): 471-475. 1996.
- 72 Apostoli P., Brugnone F., Perbellini L., Cocheo V., Bellomo M.L., Occupational styrene exposure: environmental and biological monitoring. *Am. J. Ind. Med.* 4: 741-754. 1983.
- 73 Bartolucci G.B., De Rosa E., Gori G. P., Corona P.C., Perbellini L., Brugnone F. Biomonitoring of occupational exposure to Styrene. *Appl. Ind. Hyg.* 3: 125-131. 1986.
- 74 Brenner D.D., Jeffrey A.M., Latriano L., Wazneh L., Warburton D., Toor M., Pero R.W., Andrews L.R., Walles S., Perera F.P. Biomarkers in styrene-exposed boatbuilders. *Mutat. Res.* 261: 225-235. 1991.
- 75 De Rosa E., Bartolucci G.B., Perbellini I., Brugnone F., Rausa G. Environmental and biological monitoring of exposure to toluene, styrene, and n-hexane. *Appl. Ind. Hyg.* 3: 332-337. 1988.
- 76 Imbriani M., Gobba F., Ghittori S., Di Rico R., Piscitelli M., Capodaglio E., Cavalleri A. Biological monitoring of occupational exposure to styrene. Comparison between urinary mandelic acid concentration and styrene concentration in urine and blood. *Appl. Occup. Environ. Hyg.* 5: 223-228. 1990.
- 77 Elkins H.B., Pagnotto L.P., Smith H.L. Concentration adjustments in urinalysis. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 35: 559-565. 1974.

- 78 Barber T.E., Wallis G. Correction of urinary mercury concentration by specific gravity, osmolality, and creatinine. *J. Occup. Med* 28: 354-359. 1986.
- 79 Vesterberg O., Sollenberg J., Wrangskog K. Evaluation of determinations made in urine samples: adjustments of mandelic acid concentration using creatinine and density. *Ann. Am. Conf. Ind. Hyg.* 12: 301-304. 1985.
- 80 Pezzagno G., Imbriani M., Ghittori S., Capodaglio E. Urinary concentration, environmental concentration, and respiratory uptake of some solvents: effect of the work load. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 49(11): 546-552. 1988.
- 81 Ramsey J.C., Young J.D., Karbowski R.J., Chenoweth M.B., MacCarty L.P., Braun W.H. Pharmacokinetics of inhaled styrene in human volunteers. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 53: 54-63. 1980.
- 82 Bond J.A. Review of the toxicology of styrene *CRC Crit. Rev. Toxicol.* 19: 227-249. 1989.
- 83 Droz P.O., Guillemin M.P. Human styrene exposure V. Development of a model for biological monitoring. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 53: 19-36. 1983.
- 84 Periago J.F., Morente A., Villanueva M., Luna A. Correlation between concentrations of n-hexane and toluene in exhaled and environmental air in an occupationally exposed population. *J. Appl. Toxicol.* 14: 63-67. 1994.
- 85 Prado C., Tortosa J.A., Ibarra I., Periago J.F. Biological monitoring of occupational exposure to isoflurane by measurement of isoflurane exhaled breath. *J. Appl. Toxicol.* 17: 179-183. 1997.
- 86 Fields R.L., Horstman S.W. Biomonitoring of industrial styrene exposures. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 40: 451-458. 1979.
- 87 Wieczorek H., Piotrowski J.K. Evaluation of low exposure to styrene. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 57: 57-69. 1985.
- 88 Bergert K.L., Nestler K. Solvent uptake in relation to physical activity. *Sci. Total Environ.* 101: 111-119. 1991.
- 89 Wilson H.K., Monster A.C. New technologies in the use of exhaled breath analysis for biological monitoring. *Occup. Environ. Med.* 56: 753-757. 1999.
- 90 Furuki K., Ukai H., Okamoto S., Takada S., Kawai T., Miyama Y., Mitsuyoshi K., Zhang Z.W., Higashikawa K., Ikeda M. Monitoring of occupational exposure to tetrachloroethene by analysis for unmetabolized tetrachloroethene in blood and urine in comparison with urinalysis for trichloroacetic acid. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 73: 221-227. 2000.

- 91 Mizunuma K., Kawai T., Horiguchi S., Ikeda M. Urinary methylchloroform rather than urinary metabolites as an indicator of occupational exposure to methyl chloroform. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 65: S159-S162. 1994.
- 92 Kawai T., Mizunuma K., Okada Y., Horiguchi S., Ikeda M. Toluene itself as the best urinary marker of toluene exposure. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 68: 289-297. 1996.
- 93 Imbriani M., Ghittori S., Pezzagno G., Capodaglio E. Anaesthetic in urine as biological index of exposure in operating-room personnel. *J. Toxicol. Environ. Health*. 46: 249-260. 1995.
- 94 Gobba F., Ghittori S., Imbriani M., Maestri L., Capodaglio E., Cavalleri A. The urinary excretion of solvents and gases for the biological monitoring of occupational exposure: a review. *Sci. Total Environ.* 199: 3-12. 1997.
- 95 Gobba F. Biomonitoring of Low Levels of Exposure to Styrene. *Letter to the editor. Am. J. Ind. Med* 28: 143-146. 1995.
- 96 Johansson G., Ernstgard L., Gullstrand E., Löf A., Osterman-Golkar S., Williams C.C., Sumner S. Styrene oxide in blood, haemoglobin adducts, and urinary metabolites in human volunteers exposed to ¹³C₈-Styrene vapours. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 168: 36-49. 2000.
- 97 Wrangskog K., Sollenberg J., Söderman E. Application of a single-compartment model for estimation of styrene uptake from measurements of urinary excretion of mandelic and phenylglyoxylic acids after occupational exposure. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 68: 337-341. 1996.
- 98 A.C.G.I.H. Threshold limit values (TLVs) for chemical substances and physical agents and biological exposure indices (BEIs). *ACGIH Cincinnati, Ohio USA*. 1989.
- 99 A.C.G.I.H. Threshold limit values (TLVs) for chemical substances and physical agents and biological exposure indices (BEIs). *ACGIH Cincinnati, Ohio, USA*. 1991.
- 100 I.N.S.H.T. Protocolo de validación para la determinación de vapores orgánicos en aire exhalado. *INSHT, Barcelona MTA/PV-IV/92*. 1992.
- 101 D.F.G. List of MAK and BAT Values. Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area. *VCH Verlagsgesellschaft mbH Weinheim, Germany*. 2002.
- 102 Ministry of Social Affairs and Health. Finnish occupational exposure limits. *Ministry of Social Affairs and Health, Finland*. 2000.
- 103 Mizunuma K., Yasugi T., Kawai T., Horiguchi S., Ikeda M. Exposure-excretion relationship of styrene and acetone in factory workers: A comparison of lipophilic solvent and hydrophilic Solvent. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 25: 129-133. 1993.

- 104 Perbellini L., Mozzo P., Turri P.V., Zedde A., Brugnone F. Biological exposure index of styrene suggested by a physiologic-mathematical model. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 60: 187-193. 1988.

9

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

En base a los resultados experimentales obtenidos se pueden extraer las conclusiones siguientes:

1. Los procedimientos de captación y análisis de muestras ambientales de estireno basados en el mecanismo de la difusión molecular, desorción con disolvente o desorción térmica y análisis por cromatografía de gases, son adecuados para evaluar los niveles ambientales de las exposiciones laborales a estireno, cumpliendo con los requisitos fijados en los protocolos de validación contemplados en normas nacionales y europeas.
2. El sistema desarrollado para la captación de la fracción final del aire exhalado, basado en la utilización de tubos adsorbentes empaquetados con Tenax TA y desorción térmica, permite su aplicación al control biológico de la exposición laboral a estireno, cumpliendo con los requisitos exigidos por el protocolo validación para procedimientos de evaluación de disolventes en aire exhalado.
3. La metodología desarrollada para el análisis de estireno sin metabolizar en orina mediante purga y trampa, adsorción en tubos empaquetados con Tenax TA y desorción térmica, es aplicable al control biológico de personas expuestas a este contaminante, ofreciendo la ventaja de determinar la totalidad de estireno presente en la muestra.
4. En las condiciones experimentales ensayadas en campo, los dos procedimientos difusivos de captación de estireno en aire ofrecen resultados similares a los procedimientos dinámicos para la cuantificación de los valores medios de concentración a este contaminante lo largo de una exposición laboral.
5. El 31% de la población evaluada supera el valor límite ambiental VLA-ED. Así mismo, los mayores niveles de estireno en aire se produjeron en la tarea de laminación y en la fabricación de piezas grandes, entre las que se encontraba la fabricación de embarcaciones.

6. Se han obtenido correlaciones significativas entre la dosis externa recibida por una población expuesta laboralmente a estireno y la dosis interna, estimada mediante los indicadores biológicos basados en la determinación de los metabolitos urinarios ácido mandélico, ácido fenilglicoxílico, y la suma de ambos, mejorando estas correlaciones cuando se corrigieron los resultados con la concentración de la creatinina.
7. Se han obtenido correlaciones significativas entre la dosis externa recibida por una población expuesta laboralmente a estireno y la dosis interna, estimada mediante los indicadores biológicos basados en la determinación de estireno sin metabolizar en orina y aire exhalado.
8. La concentración de estireno en aire exhalado depende del tipo de exposición, siendo mayor cuando ésta ha tenido lugar a concentraciones ambientales constantes que cuando ha sido a concentraciones variables, que son las más frecuentes en el mundo laboral, por lo que este hecho se ha tenido en cuenta para la fijación del valor límite.
9. Se han propuesto valores límite biológicos para ácido mandélico, ácido fenilglicoxílico y la suma de ambos en orina, estireno en aire exhalado final y estireno en orina, basados en la dosis correspondiente a una exposición durante 8 horas a una concentración de estireno en aire equivalente al valor límite ambiental VLA-ED. Mediante dichos valores límite se puede evaluar la dosis interna de individuos laboralmente expuestos a este compuesto.
10. Mediante el control biológico de individuos expuestos a estireno se puede verificar la eficacia de los equipos de protección individual, comparando los niveles hallados para los diferentes indicadores biológicos con los correspondientes a los niveles ambientales a los que está expuesto cada uno de los individuos.
11. Para periodos de exposición inferiores a 8 horas, la toma de muestras para el control biológico debe realizarse al final de los mismos, independientemente de que el momento coincida o no con el final de la jornada de trabajo, con objeto de no subestimar la evaluación de la dosis interna.