

# Determinación de nitrobenceno en aire - Método de adsorción en gel de sílice / Cromatografía de gases

MTA/MA-037/A96

**Palabras clave:** nitrobenceno, aire, cromatografía en gases.

## PRESENTACIÓN

En operaciones industriales, el nitrobenceno encuentra su mayor utilización en la industria de materias colorantes. Interviene en los procesos de síntesis de numerosos productos químicos, particularmente la anilina. Igualmente interviene en perfumería y en la preparación de tintas, cremas de calzado, explosivos, etc, por lo que se hace necesario disponer de un método ensayado y validado para la determinación de nitrobenceno en aire, con el fin de poder evaluar la exposición laboral al mismo.

El método "*Determinación de nitrobenceno en aire - Método de adsorción en gel de sílice / Cromatografía de gases*" es un **MÉTODO ACEPTADO** por el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT). Como **MÉTODO ACEPTADO** se entiende un método utilizado en el INSHT y que ha sido sometido a un protocolo de validación por organizaciones oficiales competentes en el área de la normalización de métodos analíticos, o bien ha sido adoptado como método recomendado por asociaciones profesionales dedicadas al estudio y evaluación de riesgos por agentes químicos, así como aquellos métodos recomendados por la UE o basados en métodos ampliamente conocidos y evaluados por especialistas en este tipo de análisis.

## Índice

### 1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

### 2. DEFINICIÓN

### 3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

### 4. REACTIVOS Y PRODUCTOS

#### 4.1. Gases

#### 4.2. Reactivos

#### 4.3. Disoluciones

### 5. APARATOS Y MATERIAL

#### 5.1. Aparatos y material para la toma de muestra

#### 5.2. Aparatos y material para el análisis

### 6. TOMA DE MUESTRA

### 7. PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

#### 7.1. Preparación de muestras y blancos

#### 7.2. Calibración

#### 7.3. Análisis cromatográfico

#### 7.4. Determinación de la eficacia de desorción

### 8. CÁLCULOS

8.1. Cálculo de la eficacia de desorción

8.2. Determinación de la concentración de analito presente en la disolución de desorción

8.3. Determinación de la cantidad de analito presente en la muestra

8.4. Determinación de la concentración de analito en aire

9. PRECISIÓN

10. BIBLIOGRAFÍA

ANEXO A

ANEXO B

---

## 1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Se describen en este método el procedimiento a seguir y el equipo necesario para la captación, en tubo de gel de sílice y análisis por cromatografía de gases, de vapores en aire de nitrobenceno presente en ambientes laborales en unos intervalos de concentración de 0,50 mg/m<sup>3</sup> a 11 mg/m<sup>3</sup> en muestras de 12 litros de aire. Los datos de validación para estos intervalos se incluyen en el [anexo A](#).

El límite superior del intervalo útil depende de la capacidad de adsorción de la gel de sílice utilizada, que se establece en función del volumen de ruptura (véase [apartado 2](#) y [tabla 1 del anexo A](#)), el cual no debe excederse durante el muestreo.

El límite inferior del intervalo útil depende de una serie de factores tales como: nivel de ruido del detector, blancos de la muestra y reactivos, eficacia de desorción y las interferencias en el análisis cromatográfico.

Este método de análisis se ha desarrollado para determinar concentraciones medias ponderadas en el tiempo de vapores de nitrobenceno en aire, mediante la utilización de equipos de toma de muestras de bajo caudal, tanto para muestreos personales como en lugares fijos. No puede ser utilizado para medir concentraciones instantáneas o fluctuaciones de concentración en periodos cortos de tiempo.

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



## 2. DEFINICIÓN

El volumen de ruptura del tubo de gel de sílice es el volumen de aire contaminado que puede pasarse a través de la primera sección del tubo, antes de que la concentración del contaminante en el aire eluyente alcance el 5% de la concentración de entrada.



## 3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La muestra se recoge haciendo pasar una cantidad conocida de aire a través de un tubo relleno de gel de sílice, mediante una bomba de muestreo personal, quedando los vapores orgánicos adsorbidos sobre la gel de sílice. Posteriormente se desorben con acetato de etilo y se analiza la disolución resultante en un cromatógrafo de gases equipado con detector de ionización de llama.

Se obtiene el área del pico del nitrobenceno y se determina la cantidad presente en la muestra. A partir de la masa de nitrobenceno presente en la muestra se obtiene la concentración ambiental.



## 4. REACTIVOS Y PRODUCTOS

### 4.1. Gases

#### 4.1.1. Nitrógeno purificado

#### 4.1.2. Hidrógeno purificado

### 4.1.3. Aire sintético puro



## 4.2. Reactivos

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

### 4.2.1. Nitrobenceno

**PRECAUCIÓN:** SUSTANCIA MUY TÓXICA. Frases (R) 26/27/28-33. Frases (S) 28-36/37-45. [Real Decreto 363/1995 \(10.2.\)](#).

### 4.2.2. Acetato de etilo

**PRECAUCIÓN:** SUSTANCIA FÁCILMENTE INFLAMABLE. Frases (R) 11. Frases (S) 16-23-29-33. [Real Decreto 363/1995 \(10.2.\)](#).



## 4.3. Disoluciones

**4.3.1. Disolución desorbente:** 2 ml de acetato de etilo.

**4.3.2. Disolución patrón para la calibración a un nivel de concentración.** Se prepara añadiendo, mediante microjeringas de precisión, una cantidad determinada de analito a un volumen de disolución desorbente (4.3.1.), a fin de obtener una disolución patrón de concentración similar a la muestra a analizar. Dicha concentración se debe expresar en términos de mg/ml de disolución desorbente.

**4.3.3. Disoluciones patrón para la calibración multinivel.** Se preparan cinco disoluciones añadiendo mediante microjeringas de precisión diferentes cantidades de analito a un volumen de disolución desorbente (4.3.1.), a fin de obtener disoluciones patrón de concentraciones que cubran el intervalo de aplicación del método. Dichas concentraciones se deben expresar en términos de mg/ml de disolución desorbente.



## 5. APARATOS Y MATERIAL

### 5.1. Aparatos y material para la toma de muestra

**5.1.1. Bomba de muestreo.** Se requiere una bomba de muestreo portátil capaz de mantener un funcionamiento continuo durante todo el tiempo de muestreo. El caudal de la bomba ha de mantenerse constante dentro de un intervalo de  $\pm 5\%$ .

Para conectar la bomba y el tubo de gel de sílice (o el soporte del tubo) se utilizará un tubo de goma o plástico de longitud y diámetro adecuados, a fin de evitar estrangulamientos y fugas en las conexiones.

Para la calibración de la bomba se utilizará preferentemente un medidor de burbuja de jabón.

**5.1.2. Tubos de muestreo.** Se utilizarán tubos de vidrio con los dos extremos cerrados a la llama de 11 cm de longitud, 8 mm de diámetro externo, conteniendo dos secciones de gel de sílice separadas por una porción de espuma de poliuretano. La primera sección contiene 520 mg de gel de sílice y la segunda, 260 mg. Entre el extremo de salida del tubo y la segunda sección se coloca otra porción de espuma de poliuretano. Delante de la primera sección se coloca un tapón de lana de vidrio silanizada.

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

Se dispondrá de algún elemento de sujeción a fin de mantener el tubo de muestreo en disposición vertical en la zona de respiración del trabajador.



### 5.2. Aparatos y material para el análisis

**5.2.1. Tubos con tapón roscado** de 3 ml de capacidad o mayores, con junta recubierta de politetrafluoroetileno.

**5.2.2. Cromatógrafo de gases equipado con detector de ionización de llama** capaz de detectar una inyección de 5 ng de nitrobenceno con una relación señal/ruido de, al menos, 5 a 1.

**5.2.3. Columna cromatográfica** de sílice fundida de 25 m de longitud y 0,2 mm de diámetro interno rellena con FFAP, o cualquier otra capaz de separar el analito de interés.

**5.2.4. Integrador electrónico** u otro sistema equivalente para la medida de las áreas de los picos.



## 6. TOMA DE MUESTRA

**6.1.** Calibrar la bomba portátil conectada a un tubo de muestreo (5.1.2.) en condiciones representativas de la toma de muestra, utilizando un medidor de caudal externo (medidor de burbuja de jabón).

**6.2.** Romper los dos extremos del tubo de gel de sílice justo antes de comenzar el muestreo. Conectar la bomba al tubo de gel de sílice con un tubo de goma o plástico de tal forma que la sección menor del tubo (segunda sección) sea la más próxima a la bomba. Evitar toda conexión anterior a la entrada del tubo de gel de sílice a fin de evitar posibles adsorciones de contaminantes en la misma, que conlleven a errores en las determinaciones.

**6.3.** Colocar verticalmente el tubo de muestreo en la zona de respiración del trabajador (por ejemplo, sujeto a la solapa). La bomba de muestreo se sujeta en el cinturón del trabajador o en su bolsillo. En el caso de muestras estáticas debe elegirse un lugar de muestreo adecuado.

**6.4.** Poner en marcha la bomba y controlar la duración del muestreo. Normalmente el caudal no debe exceder de 0,4 l/min recomendándose un volumen de muestra de 12 litros (véase [tabla 1 del anexo A](#)).

**6.5.** Anotar y registrar los tiempos, temperatura, caudal y presión barométrica antes y después de la toma de muestra.

**6.6.** Finalizado el muestreo, desconectar la bomba, retirar los tubos de muestreo y cerrar ambos extremos con los tapones de polietileno. Etiquetar convenientemente cada tubo.

**6.7.** Con cada lote de muestras debe prepararse un blanco de muestra, utilizando tubos idénticos a los usados para el muestreo y sometidos a las mismas manipulaciones, excepto que no se ha pasado aire a su través.

**6.8.** Las muestras deben almacenarse refrigerados y analizarse dentro de los catorce días siguientes a su captación (véase [tabla 4 del anexo A](#)).



## 7. PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

### 7.1. Preparación de muestras y blancos

Añadir 2 ml de la disolución desorbente (4.3.1.) a un tubo roscado y cerrarlo inmediatamente. Hacer una muesca en el tubo de gel de sílice enfrente de la primera sección de gel de sílice y romper el tubo. Se saca y se desecha la lana de vidrio. Añadir la primera sección de gel de sílice al tubo con la disolución desorbente y volver a cerrar. Agitar el tubo ocasionalmente durante un período de 30 minutos para asegurarse que la desorción sea máxima y la disolución estable. Repetir el mismo procedimiento para la segunda sección de gel de sílice utilizando otro tubo roscado.



### 7.2. Calibración

**7.2.1. Calibración a un nivel de concentración.** La disolución patrón se prepara por triplicado según el apartado 4.3.2., analizándose en las mismas condiciones que las muestras, con el fin de obtener una respuesta media del analito (8.2.1.1.).

**7.2.2. Calibración multinivel.** Cada una de las cinco disoluciones patrón preparadas según el apartado 4.3.3. se analizan en las mismas condiciones que las muestras. Cada curva de calibración se construye representando en una gráfica las concentraciones del compuesto de interés en mg/ml de disolución, frente al área del pico del analito (véase [anexo B](#)).



### 7.3. Análisis cromatográfico

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

- Temperatura del inyector 250 °C
- Temperatura del horno 140 °C
- Temperatura del detector 170 °C
- Gas portador nitrógeno división flujo 1/70
- Hidrógeno 40 ml/min
- Aire sintético 300 ml/min

**7.3.2. Inyectar una alícuota** de 5 µl tanto de la disolución resultante de la desorción del tubo de gel de sílice (7.1.) como de las disoluciones patrón en el cromatógrafo de gases. Determinar las áreas de los picos del analito de interés y del patrón interno.

#### 7.4. Determinación de la eficacia de desorción

La eficacia de desorción de los vapores de nitrobenceno puede variar con el tipo y lote de gel de sílice usado, siendo necesario calcularla para cada lote de gel de sílice sobre el intervalo de aplicación del método.

Para calcular dicha eficacia de desorción, se inyectan diferentes cantidades de los analitos de interés en, al menos, tres tubos conteniendo 520 mg de gel de sílice (primera sección de un tubo de muestreo) para cubrir el intervalo de aplicación del método. Una vez adicionados los contaminantes a los tubos de gel de sílice, se guardan refrigerados durante toda la noche para asegurar la completa adsorción. Estos tubos se tratan como muestras. Paralelamente debe prepararse un tubo blanco por cada concentración, de la misma manera que las muestras, excepto que no se le ha añadido contaminante. Asimismo, se preparan dos o tres patrones inyectando el mismo volumen de los contaminantes en 2 ml de disolución desorbente, con la misma microjeringa utilizada en la preparación de las muestras.

Tanto los tubos blancos como de muestra, se desorben con 2 ml de disolución desorbente de la forma descrita en el apartado 7.1., analizándose dichas disoluciones, así como las disoluciones patrón de la misma manera que se ha descrito en el apartado 7.3.

## 8. CÁLCULOS

### 8.1. Cálculo de la eficacia de desorción

La eficacia de desorción (ED) se calcula a partir de los resultados obtenidos en el apartado 7.4., mediante la siguiente expresión:

$$ED = \frac{m_i - m_b}{m}$$

donde:

$m_i$  es la cantidad promedio (mg) de analito recuperada en la primera sección del tubo de gel de sílice (tubo tratado como muestra).

$m$  es la cantidad promedio (mg) de analito añadida al patrón.

$m_b$  es la cantidad de analito (mg) encontrada en el blanco.

Basándose en los datos de la [tabla 2 del anexo A](#), puede considerarse que la eficacia de desorción para el contaminante objeto de este método es constante en todo su intervalo de aplicación.

Se recomienda calcular dichos valores en cada laboratorio, no utilizándose aquellos tubos cuya eficacia de desorción sea inferior a 0,75.

### 8.2. Determinación de la concentración de analito presente en la disolución de desorción

#### 8.2.1. Calibración a un nivel de concentración

**8.2.1.1.** Determinación del factor de respuesta. Se calcula el factor de respuesta para cada analito con los datos obtenidos en el apartado 7.2.1. mediante la expresión:

$$F = \frac{m}{A}$$

donde:

$m$  es la cantidad de analito en las disoluciones patrón;

$A$  es el área promedio correspondiente a cada analito en las disoluciones patrón.

**8.2.1.2.** La concentración en miligramos por mililitro de cada analito, en las disoluciones de desorción de cada sección del tubo de

muestreo, se determina según la expresión:

$$c_i = A_i \times F_R$$

donde:

$c_i$  es la concentración de analito en mg/ml de disolución.

$A_i$  es el área correspondiente al pico de analito en la muestra.

**8.2.2. Calibración multinivel.** Leer la concentración en miligramos por mililitro correspondiente a cada sección del tubo de muestreo en la curva de calibración (véase 7.2.2. y anexo B).



### 8.3. Determinación de la cantidad de analito presente en la muestra

Una vez determinada la concentración de analito en la disolución de desorción, se calcula la cantidad en ms de compuesto en el tubo de muestreo mediante la siguiente expresión:

$$m_s = \frac{c_f + c_p + c_b}{ED} \times V_d$$

donde:

$m_s$  es la cantidad total de analito presente en la muestra en mg.

$c_f$  es la concentración de analito en mg/ml en la sección frontal del tubo de muestreo.

$c_p$  es la concentración de analito en mg/ml en la sección posterior del tubo de muestreo.

$c_b$  es la concentración de analito en mg/ml en las dos secciones del blanco.

ED es la eficacia de desorción calculada por interpolación en el gráfico de eficacias de desorción (véase 8.1.).

$V_d$  es el volumen de disolución desorbente en ml.



### 8.4. Determinación de la concentración de analito en aire

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

$$C_{\text{aire}} = \frac{m_b}{V}$$

donde:

$C_{\text{aire}}$  es la concentración de analito en el aire muestreado en mg/m<sup>3</sup>.

$m_s$  es la cantidad total de analito presente en la muestra en mg.

V es el volumen muestreado en litros.

La concentración de analito en aire, expresada en mililitros por metro cúbico (ppm), se calcula por medio de la siguiente expresión:

$$C_{\text{ppm}} = C_{\text{aire}} \times \frac{24,4}{M} \times \frac{101,3}{P} \times \frac{t + 273,15}{293,15}$$

donde:

P es la presión del aire muestreado en kPa ( $10^3$  N/m<sup>2</sup>).

t es la temperatura del aire muestreado en °C.

M es el peso molecular del analito en g/mol.

## 9. PRECISIÓN

El coeficiente de variación del método, calculado a partir de los datos intralaboratorio de muestras captadas en atmósferas de nitrobenceno de concentraciones conocidas, es inferior a 5% en todo el intervalo de aplicación del método (véase [tabla 3 del anexo A](#)).

## 10. BIBLIOGRAFÍA

1. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo "Protocolo de validación para la determinación de gases y vapores orgánicos en un adsorbente sólido mediante un sistema activo". MTA/PV - 1/90.
2. Real Decreto 363/1995 <sup>(1)</sup> de 10 de marzo (B.O.E. 5.6.95) "Reglamento sobre notificación de sustancias nuevas y clasificación, envasado y etiquetado de sustancias peligrosas". Modificado el Anexo 1 por la Orden de 13.9.95 (B.O.E. 19.9.95).
3. Chapman, L. M. "Validation of gas and vapour sampling methods under field insult conditions" Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 41, 630 (1980).
4. National Institute for Occupational Safety & Health (NIOSH). *Manual of Analytical Methods*. 3<sup>th</sup> ed. , Method 2005 (1984).

## ANEXO A

En este anexo se recogen las tablas de los datos obtenidos en las experiencias llevadas a cabo para el desarrollo del método, siguiendo los criterios indicados en el protocolo de validación para vapores orgánicos captados en un adsorbente sólido mediante un sistema activo (10.1.).

**TABLA 1**  
**Cálculo del Volumen de Ruptura  $V_R$**

COMPUESTO	SG mg	C mg/m <sup>3</sup>	H <sub>R</sub> %	Q <sub>TM</sub> l/min	V <sub>R</sub> l
NITROBENCENO	150	63,14	75	0,235	2,9
		30,71	65	0,238	4,3
		13,13	66	0,240	5
		9,53	74	0,235	6
	520	326,28	85	0,131	15

C concentración generada en la atmósfera.

H<sub>R</sub> humedad relativa de la atmósfera.

Q<sub>TM</sub> caudal de toma de muestra.

V<sub>R</sub> volumen de ruptura. Véase definición en el [capítulo 2](#).

SG cantidad de gel de sílice en la primera sección del tubo de muestreo.

**TABLA 2**  
**Eficacia de desorción (ED)**

COMPUESTO	C mg	C <sub>R</sub> mg	CV %	ED
NITROBENCENO	0,0061230	0,006096	4,75	0,996
	0,030920	0,031390	1,61	1,015

0,061740	0,061740	1,47	1,001
0,120010	0,121710	0,81	1,014

C cantidad de compuesto añadida a 520 mg de gel de sílice.

CR cantidad de compuesto recuperada. Cada resultado es promedio de 6 muestras analizadas.

ED eficacia de desorción (véase 7.4. y 8.1.).

CV coeficiente de variación

**TABLA 3**  
**Muestreo/Análisis - Datos intralaboratorio**

H <sub>R</sub> %	C <sub>A</sub> mg/m <sup>3</sup>	C <sub>R</sub> mg/m <sup>3</sup>	CV %	SESGO %
78	0,557	0,522	3,04	-6,28
77,5	2,710	2,505	1,45	-7,49
76,3	5,058	4,663	1,19	-7,81
91	10,997	10,382	3,29	-5,42
2	0,526	0,493	2,49	-6,27
9	2,922	2,717	2,38	-7,02
6,5	5,945	5,563	2,69	-6,42
5,6	11,092	10,254	1,51	-7,55

C<sub>A</sub> concentración de compuesto generada en la atmósfera.

C<sub>R</sub> concentración media recuperada de cada compuesto. Cada resultado es promedio de, al menos, 5 muestras analizadas.



Sesgo =  
[(CR - CA) /  
CA] x 100.

H<sub>R</sub> humedad  
relativa de la  
atmósfera.

CV  
coeficiente  
de variación.

**TABLA 4**  
**Estudio de estabilidad de las muestras**

FECHA ANÁLISIS	TEMPERATURA	C <sub>R</sub> mg/m <sup>3</sup>	CV %	DIF %
Inmediato	Ambiente	10,382	3,29	-
7 días	Ambiente	9,792	2,40	-5,08
	Refrigerado	10,002	1,68	-3,66
14 días	Ambiente	9,686	2,73	-6,70
	Refrigerado	10,203	2,53	-1,72

CR  
concentración  
media  
recuperada  
en la 1<sup>a</sup> parte  
del tubo.  
Cada  
resultado es  
promedio de  
5 ó 6  
muestras  
analizadas,  
según los  
casos.

DIF  
Diferencia  
porcentual  
con respecto  
al análisis  
inmediato.

CV  
coeficiente  
de variación

**NOTA** - La concentración de nitrobenceno generada en la atmósfera fue de: 10,977 mg/m<sup>3</sup>. La humedad relativa de la atmósfera fue del 91 %.

## ANEXO B: DESARROLLO DE UNA CURVA DE CALIBRADO

En este anexo se describe el procedimiento a seguir para el desarrollo de una curva de calibrado y control de la estabilidad de la misma a lo largo del tiempo.

Para el desarrollo de la misma, se preparan cinco disoluciones de calibración de los analitos de interés que cubran el intervalo de concentraciones de aplicación del método.

- Analizar los patrones en las mismas condiciones que las muestras. Se recomienda un mínimo de seis inyecciones.
- Calcular para cada concentración y analito el promedio de las respuestas obtenidas y la desviación típica correspondiente. Las curvas de calibración se construyen representando los intervalos de los valores promedios  $\pm 2$  desviaciones típicas, frente a las concentraciones en mg/ml de cada analito.
- Comprobar diariamente la curva de calibrado mediante el análisis de uno de los patrones de calibración. El valor obtenido para cada analito debe encontrarse dentro del intervalo asociado a ese patrón.



Para cualquier observación o sugerencia en relación con este Método puede dirigirse al  
**Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo**  
[Centro Nacional de Verificación de Maquinaria](#)  
Camino de la Dinamita, s/n Monte Basatxu-Cruces - 48903 BARACALDO (VIZCAYA)  
Tfn. 944 990 211 - 944 990 543 Fax 944 990 678  
Correo electrónico.- [cnvminsht@mtas.es](mailto:cnvminsht@mtas.es)



---

## ADENDA

### Revisión normativa

<sup>(1)</sup> [Real Decreto 363/1995](#) sufre periódicamente modificaciones por lo que es conveniente consultar los listados que en esta Web se trata de mantener actualizados

