

VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA MEDIR GASES CONTAMINANTES (SO₂, NO₂ Y O₃) MEDIANTE CAPTADORES PASIVOS, INCLUYENDO UN ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA CALIDAD DEL AIRE, EN UNA FÁBRICA INDUSTRIAL

Cifuentes, Cristina

Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE, Departamento de Ciencias de la Vida, Carrera de
Ingeniería en Biotecnología

RESUMEN:

La contaminación atmosférica ha provocado diferentes efectos negativos. Existen varios contaminantes atmosféricos entre los cuales se puede mencionar el ozono, el dióxido de nitrógeno y el dióxido de azufre, además de los contaminantes microbiológicos. Contaminantes que deben ser analizados mediante técnicas analíticas para cuantificar su concentración y que posean algún criterio de aceptación para garantizar que los resultados sean confiables. Por ello, se pretendió validar la técnica de captación pasiva de ozono, dióxido de nitrógeno y dióxido de azufre, además se realizó un monitoreo de la calidad del aire para conocer la concentración de dichos gases y de microorganismos que están presentes en la fábrica industrial INGESA para lo cual se analizaron las muestras de gases por espectrofotometría a diferentes longitudes de onda y se realizó un recuento de las muestras microbiológicas. El método de captación pasiva de los tres gases atmosféricos cumplió con los objetivos de validación con excepción de la exactitud. Y el análisis de la calidad del aire en la fábrica industrial mostró que la concentración de los tres gases y la cantidad de microorganismos están por debajo de los límites permisibles.

Palabras clave: *contaminación atmosférica, captación pasiva, validación, dióxido de nitrógeno, dióxido de azufre, ozono, microorganismos.*

ABSTRACT:

Air pollution has caused different negative effects. There are several air pollutants for example: ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide, and the microbiological contaminants. Pollutants must be analyzed using analytical techniques to quantify their concentration and having some acceptance criteria to ensure that the results are reliable. Within this context the technique of passive sampling of ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide was validated, in addition a monitoring of air quality was made to determine the concentration of these gases and microorganisms that are present in the industrial plant INGESA for which gas samples were analyzed by spectrophotometry at different wavelengths and a count of microbiological samples was performed. The passive sampling method for measuring the three atmospheric gases achieved the validation objectives, except for the accuracy. And the analysis of air quality in the industrial plant showed that the concentration of the three gases and the amount of microorganisms is below allowable limits.

Keywords: *air pollution, passive sampling, validation, nitrogen dioxide, sulfur dioxide, ozone, microorganisms.*

INTRODUCCIÓN:

La atmósfera es una capa protectora que ha sido usada como zona de descarga de diversos materiales contaminantes, una práctica dañina para la vegetación y los materiales, que acorta la vida humana y altera las características propias de la atmósfera. Y a pesar de que la atmósfera tiene la facultad de autodepurarse de contaminantes dañinos oxidándolos, esta capacidad está llegando a un límite (Manahan, 2007).

Las modificaciones ambientales producidas por las industrias y los automóviles pueden desencadenar factores agresivos para la salud de las personas. Para llevar a cabo una labor preventiva de las enfermedades se necesita evaluar la exposición a la que se encuentran las personas, que una vez comparada con la de referencia permite determinar la necesidad de la corrección del problema (Llaneza, y otros, 2009).

El Ecuador ha sido un país caracterizado por el crecimiento desorganizado, con problemas como la contaminación del aire. Por esta razón, la reducción, el control y prevención de la contaminación resultan imprescindibles (Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo, 2013).

Dentro de este contexto, es necesario evaluar la concentración de los gases contaminantes y de microorganismos que existen en las fábricas industriales y conocer cómo están afectando a la

salud de los trabajadores. Para lo cual se precisa que las diferentes metodologías sean sometidas a algún criterio de aceptación con el objetivo de garantizar que los datos analíticos son los que cabría esperar. Este criterio es el proceso de validación, que proporciona evidencia documentada con la cual se asegurará que los resultados obtenidos son confiables y reproducibles, y que cumplen con los requisitos mínimos de calidad (Ospino, 2013).

Con estos antecedentes, este proyecto pretende validar un método de captación pasiva para medir los gases contaminantes y realizar un estudio de los microorganismos presentes en el aire.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Trabajo en campo

Se recolectaron las muestras de gases (SO₂, NO₂ y O₃) en los parqueaderos de la fábrica INGESA y el consorcio bacteriano en el comedor de dicha fábrica.

Se realizó un monitoreo de los tres gases contaminantes cerca de la estación Centro de la Secretaría del Ambiente para determinar el parámetro de exactitud de la validación.

El cartucho adsorbente para la determinación de O₃ permaneció durante cuatro días en el lugar de

toma de la muestra. Y en el caso del NO₂ y SO₂ el monitoreo duró siete días.

El monitoreo microbiológico duró una hora.

Trabajo en el laboratorio

Los análisis se realizaron en el laboratorio de Aguas de la EPN (Escuela Politécnica Nacional).

Materiales

Se utilizaron balones aforados de 1000, 250 y 10 ml; pipetas de 2, 5 y 10 ml y una micropipeta de 100 a 1000 µl. Para los monitoreos de los gases se utilizaron los captadores pasivos, cuerpos difusivos. Y para el monitoreo microbiológico se utilizaron cajas Petri.

Equipos

Para el análisis de los tres gases se utilizó: espectrofotómetro, balanza.

Para la cuantificación de las bacterias se usó: incubadora. Y para la elaboración de los medios de cultivo se necesitó balanza.

Reactivos

Para la determinación de ozono se utilizó: ácido sulfúrico, 3-metil-2-

benzotiazolinona hidrazona (MTBH), agua destilada tipo II y 4-piridilo aldehído (patrón de referencia).

Para la determinación de dióxido de nitrógeno se utilizó: ácido clorhídrico, sulfanilamida, N -(1-naftil) etilen diamina di hidrocloreto (NEDA), agua destilada tipo II y nitrito de sodio (patrón de referencia).

Para la determinación de dióxido de azufre se utilizó: ácido clorhídrico, cloruro de bario, agua destilada tipo II y sulfato de sodio (patrón de referencia).

Para el análisis microbiológico se usó los medios de cultivo SDA y TSA.

Procedimiento de análisis de las muestras

Para el análisis de O₃ se elaboró una curva de calibración de 4-piridilo aldehído, obteniendo soluciones de calibración de 0,5 mg/l; 1,25 mg/l; 2,5 mg/l y 5 mg/l. Se transfirió 1,2 ml de cada solución en un tubo plástico con 10.8 ml de solución de MTBH, se agitaron y dejaron reposar por una hora y se leyeron a 430 nm en el espectrofotómetro.

Las muestras fueron tratadas directamente con el MTBH se esperó una hora y se leyeron a 430 nm en el espectrofotómetro (Fondazione Salvatore Maugeri IRCCS, 2006).

Para el análisis de NO₂ se preparó una solución madre de 100 mg/l de nitritos y a partir de dicha solución se elaboraron los estándares de calibración que varían de 0,5 a 5 mg/l expresado como NO₂⁻. Se transfirió 1 ml de cada estándar a un tubo se colocó 10 ml de solución de sulfanilamida, se esperó 5 minutos, se puso 2 ml de NEDA, se esperó 10 minutos y se leyó en el espectrofotómetro a 537 nm (Fondazione Salvatore Maugeri IRCCS, 2006)..

Las muestras de dióxido de nitrógeno fueron tratadas primero con 3 ml de agua destilada, después de una hora se extrajo 1 ml de la muestra y se procedió a colocar la solución de sulfanilamida y NEDA al igual que en la curva de calibración.

Para el análisis de SO₂ primero se preparó la curva de calibración preparando estándares de calibración (de 0,5 a 5 mg/l) a partir de una solución madre de sulfatos de 100 mg/l. Se midió 5 ml del estándar de calibración, se colocó 1 ml de la solución sobresaturada de cloruro de bario, se colocó 0.5 ml de ácido

clorhídrico y se midió la absorbancia de las muestras a 420 nm.

Las muestras de dióxido de azufre primero fueron tratadas con 5 ml de agua destilada, después de una hora se colocó el 1 ml de cloruro de bario y 0.5 ml de ácido clorhídrico y se midió la absorbancia de las muestras a 420 nm.

Para el análisis microbiológico del aire se prepararon los medios de cultivo TSA para bacterias y SDA para hongos. Una vez realizado el monitoreo se incubó a 36°C las placas con TSA y a 24°C las que contienen SDA. Después de tres días de incubación, las colonias de las cajas son contadas y registradas (Environmental Protection Agency, 2003).

Cálculos

Para el cálculo de la concentración de los tres gases en µg/m³, se utilizó la fórmula:

$$C = \frac{m}{Q_k \cdot t} 1000000$$

Donde m es la masa del contaminante, t es el tiempo de muestreo y Q_k es la

tasa de muestreo (Fondazione Salvatore Maugeri IRCCS, 2006).

Validación

Para la validación del método de captación de los tres gases, se plantearon los siguientes objetivos: incertidumbre del método menor al 30%, precisión (repetibilidad y reproducibilidad): establecida como la diferencia absoluta de dos mediciones de la misma muestra menor o igual a 0,05; límite de detección y cuantificación, linealidad (correlación) igual o mayor a un R² de 0,99; exactitud (porcentaje de recuperación) mayor o igual al 75% (Delgado, 2005). Se determinó la linealidad generando curvas de calibración con el método de los mínimos cuadrados. Para el cálculo del rango lineal, se estableció el coeficiente de correlación R² que se obtuvo a partir de una curva de calibración promedio.

Para el cálculo del límite de detección se utilizó las absorbancias obtenidas a partir de la curva de calibración del método. A partir de estos datos se obtuvo la desviación del intercepto, la pendiente, el error tipo y la t-student, que fueron utilizados en las siguientes formulas (IUPAC, 1995).

$$\text{Límite de detección: } X_L = \frac{TS_{Lo}}{m}$$

$$\text{Límite de cuantificación: } X_{LC} = \frac{TS_{xy}}{m}$$

Para el cálculo de la precisión del método se utilizó el análisis de varianza ANOVA.

Para la determinación de la exactitud se necesita de un sistema de generación de atmósferas para someter a los captadores a una concentración conocida del contaminante. Lastimosamente, en el país no existe dicho sistema, por lo que se hizo el monitoreo cerca de la estación de la Secretaría del Ambiente, utilizando los datos de dicha estación como material de referencia (Secretaría del Ambiente Quito, 2013).

Para verificar la exactitud del método se dedujo el sesgo que varía en términos de recuperación. Para el cálculo del porcentaje de recuperación se utiliza la siguiente fórmula (Márquez, Pabón, Blair, López, & Morales, 2004):

$$\%R = \frac{\text{cantidad analito hallado}}{\text{cantidad analito esperado}} \times 100$$

Para la determinación de la incertidumbre se tomó en cuenta todos los efectos reconocidos que influyen en el resultado de las muestras, los cuales son: la desviación estándar de la exactitud, repetibilidad, reproducibilidad, del límite de detección y de cuantificación y linealidad. Además de las incertidumbres de los certificados de análisis y de calibración de los reactivos y equipos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Validación

Para la linealidad el coeficiente de correlación que se obtuvo para los tres

métodos de determinación de gases contaminantes fue mayor a 0.99, lo que indica que al ser esta cercana a 1 no existe variabilidad significativa entre las variables (Gutiérrez & De La Vara, 2008).

Los coeficientes de variación de ozono, dióxido de nitrógeno y dióxido de azufre no sobrepasaron el 5%, lo cual indica que no existe dispersión entre los datos. Además a partir del cálculo de la F de Fisher se determinó que no existen diferencias entre los días; los valores de las mediciones realizadas son similares.

Los resultados de la incertidumbre obtenidos en los tres métodos de captación pasiva no superan el valor establecido en los objetivos de validación (menor al 30%). El valor de la incertidumbre expandida nos indica que los resultados del método, con un nivel de confianza del 95%, tienen su valor verdadero dentro de dicho nivel de incertidumbre (Schmid & Lazos, 2000).

Los resultados de límite de detección y cuantificación nos indican que los métodos para determinar ozono y dióxido de nitrógeno son capaces de cuantificar de manera confiable cantidades mínimas de estos dos compuestos. El límite de detección y cuantificación del método para determinar dióxido de azufre son más altos que los límites de las otras técnicas debido a que el método de precipitación con cloruro de bario se

usa para concentraciones entre 1 y 40 mg/l. (Castro, y otros, 1996)

La exactitud describe cuánto una medida se aproxima a un valor verdadero (Bennett, Briggs, & Triola, 2011). Para lo cual se necesitaba un sistema de atmósferas controladas, el cual permite que se forme una mezcla entre el aire y el material de referencia. Lastimosamente, los laboratorios ambientales de nuestro país carecen de dicho sistema, con lo cual no fue posible establecer si la medida de los captadores es exacta. Sin embargo, se realizó el monitoreo cerca de la estación Centro de la Secretaría del Ambiente para poder utilizar los datos provenientes de la estación como material de referencia. A partir del monitoreo se calculó el porcentaje de recuperación de los tres métodos, el cual fue mayor al 75% (Delgado, 2005).

Monitoreo

Aunque los resultados obtenidos en el muestreo de ozono no superan el límite establecido, en el muestreo del 28 de agosto al 1 de septiembre se obtuvo el valor más alto del monitoreo 34,56 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Este resultado se debió a una mayor presencia de luz solar ocasionándose más reacciones fotoquímicas de contaminantes precursores de ozono troposférico como son los óxidos de nitrógeno (Diadora, 2009)

Tabla 1: Resultados de monitoreo. O_3

Fecha	Código	Concentración (ug/m ³)	Promedio
14-21 de agost.2013	487 AA	20,00	19,36
	488 AA	19,09	
	489 AA	18,97	
21-28 de agost.2013	490 AA	26,27	27,25
	491 AA	27,36	
	492 AA	28,12	
28 agost.- 1 sept. 2013	493 AA	37,03	34,56
	494 AA	33,02	
	495 AA	33,62	
1-5 sept. 2013	496 AA	25,95	25,76
	497 AA	26,33	
	498 AA	25,01	
5-9 sept. 2013	499 AA	29,00	29,07
	500 AA	28,80	
	501 AA	29,40	

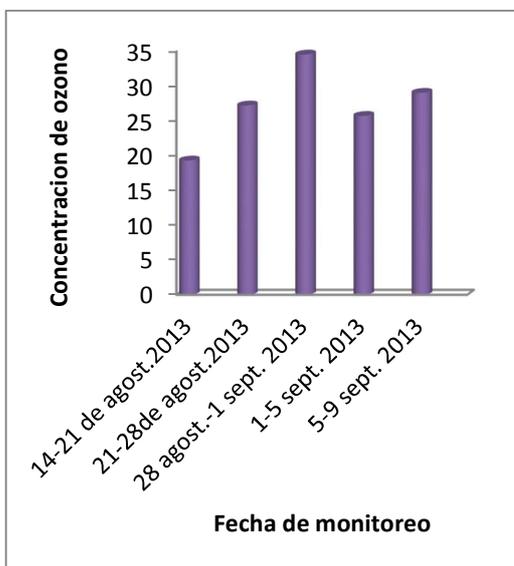


Figura 1: Gráfica concentración promedio por día de O₃.

Los resultados del monitoreo de dióxido de nitrógeno muestran que los valores obtenidos no superan el límite establecido que es de 40 ug/m³ según la OMS (ver anexo 9), como se puede ver en la tabla 2. El aumento de este contaminante a principios de noviembre pudo deberse a la presencia de una mayor cantidad de

automotores por el inicio del periodo académico.

Tabla 2: Resultados de monitoreo. NO₂

Fecha	Código	Concentración (ug/m ³)	Promedio
14-21 agost. 2013	XX 354	27,02	26,05
	XX 355	25,57	
	XX 356	25,57	
21- 28 agost.2013	XX 357	26,10	24,73
	XX 358	24,10	
	XX 359	24,10	
28 agost.- 4 sept. 2013	XX 360	33,93	31,33
	XX 361	27,81	
	XX 362	32,26	
4-11 sept. 2013	XX 363	31,73	31,90
	XX 364	33,15	
	XX 365	30,78	
11-18 sept. 2013	XJ 366	27,94	27,45
	XJ 367	27,45	
	XJ 368	26,96	

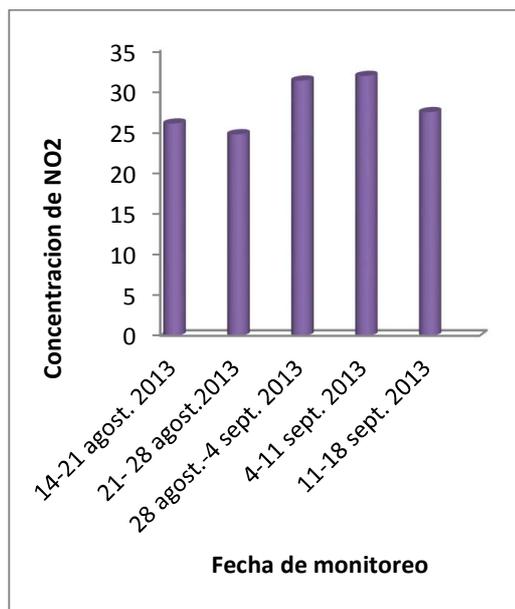


Figura 2: Gráfica concentración promedio por día de NO₂

Los resultados muestran que los valores obtenidos en el monitoreo están muy por debajo del límite establecido según la OMS, como se puede observar en la tabla 3.

Tabla 3: Resultados de monitoreo. SO₂

Fecha	Código	Concentración (µg/m ³)	Promedio
14-21 agost. 2013	XX 760	3,24	3,51
	XX 761	3,24	
	XX 762	4,05	
21- 28 agost. 2013	XX 763	5,12	5,55
	XX 764	6,41	
	XX 765	5,12	
28 agos.- 4 sept. 2013	XX 766	6,91	6,76
	XX 767	7,37	
	XX 768	5,99	
4-11 sept. 2013	XJ 222	4,43	4,29
	XJ 223	4,83	
	XJ 224	3,62	
11-18 sept. 2013	XJ 229	4,10	3,69
	XJ 230	3,69	
	XJ 231	3,28	

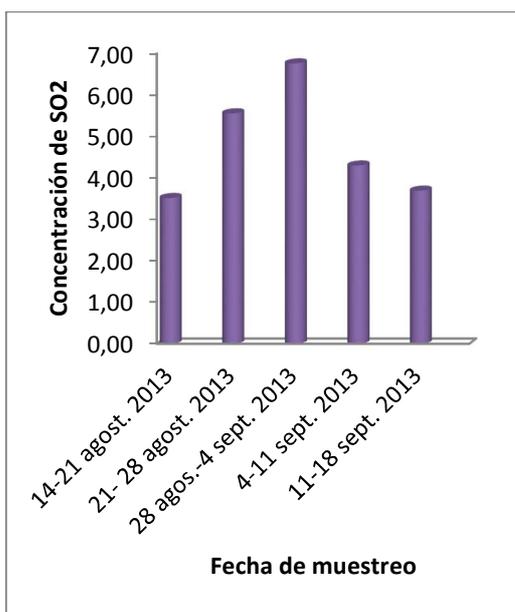


Figura 3: Gráfica concentración promedio por día de SO₂.

Ninguno de los tres gases contaminantes superó el límite permisible de la OMS (60 µg/m³ para el O₃, 40 µg/m³ para el NO₂ y 50 µg/m³ para el SO₂) debido a que el monitoreo fue realizado en verano,

época en la cual la velocidad del viento es más alta, lo que indica que las emisiones de la fábrica posiblemente se transportaron hacia otro sector.

Según la EPA (2003), el número de colonias no puede superar las 15 colonias por placa en un tiempo de 15 minutos, haciendo una relación se puede decir que las UFC no pueden superar las 60 colonias por placa en 60 minutos. Si es que se excede este número se debe hacer una investigación para encontrar la posible fuente de contaminación. Los resultados de la tabla 4 (ver siguiente página) muestran que los valores obtenidos en el monitoreo no superan las 60 colonias por placa.

CONCLUSIONES

Se logró cumplir con los siguientes parámetros de validación: límite de detección y cuantificación, precisión (repetibilidad y reproducibilidad), intervalo de trabajo, selectividad del método, linealidad e incertidumbre del método para medir gases contaminantes (SO₂, NO₂ y O₃) mediante captadores pasivos determinando y demostrando el cumplimiento de los parámetros antes mencionados, con excepción del parámetro de exactitud (porcentaje de recuperación).

Tabla 1: Unidades formadoras de colonias a los 60 minutos.

Fecha	TSA (bacterias)	SDA (hongos)
23 de septiembre del 2013	34	4
	46	6
	39	5
	41	4
	25	4
24 de septiembre del 2013	23	3
	42	4
	27	3
	28	4
	40	3
25 de septiembre del 2013	40	4
	45	6
	46	4
	50	7
	46	5
26 de septiembre del 2013	36	8
	39	7
	37	6
	34	5
	30	6
27 de septiembre del 2013	36	2
	44	0
	38	2
	37	1
	34	5
Promedio	37.48	4,320

- Se estableció que la linealidad de los tres métodos de captación pasiva para la determinación de por debajo de los límites permisibles.

ozono, dióxido de nitrógeno y dióxido de azufre es mayor a 0.99, concluyendo que los tres métodos poseen una alta relación entre la concentración del analito y la absorbancia.

- Se concluyó que los métodos pueden detectar y cuantificar cantidades pequeñas de los tres compuestos ya que los límites de detección y cuantificación determinados son menores a 1 ppm.
- Los tres métodos demostraron ser precisos ya que los coeficientes de variación de repetibilidad y reproducibilidad son menores al 5%.
- Se concluyó que la incertidumbre expandida de los tres métodos que tiene el 95% de confianza, tiene valores menores al 30% cumpliendo con lo planteado.
- Se midieron los gases contaminantes SO₂, NO₂ y O₃ mediante los captadores pasivos Radiello® en la fábrica industrial ubicada en el sector de los Dos Puentes, en el cantón Quito, en la provincia de Pichincha, concluyendo que los resultados obtenidos en el monitoreo están
- Se realizó el análisis microbiológico mediante el método QC-02-04. Standard Operating Procedure for Air/Surface

Monitoring of Microbiology Laboratories de la EPA en aire-ambiente, concluyendo que la cantidad de microorganismos presentes en el comedor están por debajo de la norma establecida por la EPA.

REFERENCIAS

- Bennett, F., Briggs, W., & Triola, M. (2011). *Razonamiento estadístico*. México: Pearson.
- Castro, S., Medina, G., Simone, P., Huertas, R., Hill, M., Lucas, R., & Mosacatelli, M. (1996). *Manual de procedimientos analíticos para aguas y efluentes*. Uruguay: DINAMA.
- Delgado, J. (21 de enero de 2005). *Validación e implementación de técnicas de captación pasiva para el estudio de los niveles y efectos de ozono troposféricos y dióxido de nitrógeno en un área costera mediterránea*. Obtenido de Repositori Universitat Jaume I: <http://repositori.uji.es/xmlui/handle/10234/29678?locale-attribute=en>
- Diadora, C. (2009). *Ciencias de la tierra y medioambientales*. España: McGraw-Hill.
- Environmental Protection Agency, E. (22 de marzo de 2003). *Standard Operating Procedure for Air/Surface Monitoring of Microbiology Laboratories*. Obtenido de <http://www.epa.gov/opp00001/methods/atmpmethods/QC-02-03.pdf>
- Esteve, V. (18 de febrero de 2009). *Medida de contaminantes atmosféricos: métodos difusivos pasivos frente a métodos convencionales*. Obtenido de Universidad Politécnica de Valencia: <http://www.upv.es/upl/U0455041.pdf>
- Eurachem. (2005). *Métodos analíticos adecuados a su propósito*. México: Eurachem.
- Fondazione Salvatore Maugeri IRCCS. (2006). *Radiello Manual*. Padova: Centro di Ricerche Ambientali.
- Gallego, A., González, I., Sánchez, B., Fernández, P., Garcinuño, R., Bravo, J., Durand, J. (2012). Contaminación atmosférica. En *La atmósfera* (págs. 16, 22). Madrid: UNED.
- Gella, J. (2012). *Trazabilidad e incertidumbre de la medición en el laboratorio clínico*. Obtenido de International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine: <http://www.ifcc.org/media/216090/Trazabilidad%20e%20incertidumbre.pdf>
- Grau, M., & Grau, M. (2006). Riesgos ambientales en la industria. En *Principales contaminantes, sus fuentes y efectos* (págs. 29-32). Madrid: UNED.

Gutiérrez, H., & De La Vara, R. (2008). *Análisis y diseño de experimentos*. México D.F.: Mc Graw Hill.

Henry, G., & Heinke, G. (1999). Ingeniería ambiental. En W. Moroz, *Contaminación del aire* (págs. 275-276, 492-500). México: Prentice Hall.

IUPAC. (1995). *Nomenclature in Evaluation of Analytical Methods including Detection and Quantification Capabilities*. Gran Bretaña: Pure & Appl. Chem.

Ministerio del Ambiente. (2010). *Plan Nacional de la Calidad del Aire*. Obtenido de <http://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2012/10/libro-calidad-aire-1-final.pdf>

Organismo de Acreditación Ecuatoriano - OAE. (2005). *Criterios generales. Acreditación de laboratorios de ensayo y calibración. Norma NTE INEN ISO/IEC 17025*. Quito.

Ospino, G. (7 de febrero de 2013). *Validación secundaria del método FPM*. Obtenido de Academia.edu: http://www.academia.edu/4290912/VALIDACION_SECUNDARIA_DEL_METODO_FPM

Schmid, W., & Lazos, R. (mayo de 2000). *Guía para estimar la incertidumbre de la medición*. Obtenido de Centro Nacional de Metrología: <http://www.paginaspersonales.unam.mx/files/473/Asignaturas/78/Archivo1.23.pdf>

Secretaría del Ambiente Quito. (2013). *Reporte de datos diarios*. Obtenido de <http://190.152.144.75/reportes/Reporte10MinutoGraph.aspx>

Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo. (2013). *SENPLADES*. Obtenido de Plan Nacional del Buen Vivir: <http://www.buenvivir.gob.ec/versiones-plan-nacional>