



# Documentación

## NTP 486: Evaluación de la exposición a benceno: control ambiental y biológico

Exposure evaluation to benzene: Environmental and biological assessment  
Evaluation des expositions au bencene: Controle atmosphérique et biologique

### Redactores:

Concepción Santolaya Martínez  
Lda en Ciencias Biológicas

Xavier Guardino Solá  
Doctor en Ciencias Químicas

M. Gracia Rosell Farrás  
Ingeniero Técnico Químico

CENTRO NACIONAL DE CONDICIONES DE TRABAJO

*La exposición laboral a benceno ha quedado actualmente restringida a los procesos químicos en los que el benceno se utiliza como reactivo, a ciertas operaciones en refinerías y a los trabajadores de gasolineras en las que no se aplican medidas de protección a la exposición durante la carga del carburante. Sin embargo, la exposición ambiental al mismo se puede considerar como importante, dada su relativamente elevada presencia residual en el aire urbano, proveniente básicamente de las fuentes difusas. En la presente NTP se da un repaso a los procedimientos existentes para evaluar la exposición al mismo.*

## Introducción

El benceno, que se obtiene por destilación del alquitrán de hulla y del petróleo, además de ser un producto químico de uso industrial, aunque limitado, es un componente de las gasolinas y, en consecuencia, de las emisiones de los motores de combustión interna. También se asocia a otras combustiones, como por ejemplo el humo del tabaco, lo que determina su presencia en el ambiente a unas concentraciones que oscilan entre 5 y 30  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  tanto en aire exterior como interior, dependiendo en este último caso de las actividades que se realicen en él. En ambientes laborales, es usual que la concentración de benceno se encuentre entre 100-1500  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ . Todo ello explica su presencia en el organismo tanto de los trabajadores expuestos profesionalmente, como del público en general.

Por otro lado, según conclusiones de un estudio realizado en la República Federal Alemana, la población general está expuesta a un nivel ambiental promedio de benceno que oscila entre 23 y 30  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  (concentración de carga de segundo plano), por lo que propone un nivel de "intervención" de 25  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ . Los datos disponibles de benceno en aire en el Centro Nacional de Condiciones de Trabajo del INSHT desde 1995 presentan variaciones entre 1 y 50  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ .

## Efectos sobre la salud

La intoxicación aguda, por inhalación de gran cantidad de vapores de benceno, es poco común salvo en caso de accidentes, especialmente desde la reducción en el uso del benceno asociada a su carácter cancerígeno. En los casos descritos se produce una afectación del sistema nervioso central, en forma de excitación, para pasar rápidamente a una fase de depresión, con cefalea, fatiga, parestesia en las manos y los pies, vértigos y dificultad para la articulación de las palabras.

La intoxicación crónica produce de modo selectivo una afectación de la médula ósea, de forma que se altera la hematopoyesis, admitiéndose la existencia de una relación causal entre altas exposiciones a benceno y el desarrollo de pancitopenia, anemia aplásica y leucemia. En consecuencia, el benceno está clasificado como carcinógeno de primera categoría: “sustancia que por inhalación, ingestión o penetración cutánea, se sabe (a partir de datos epidemiológicos), es carcinógena para el hombre”.

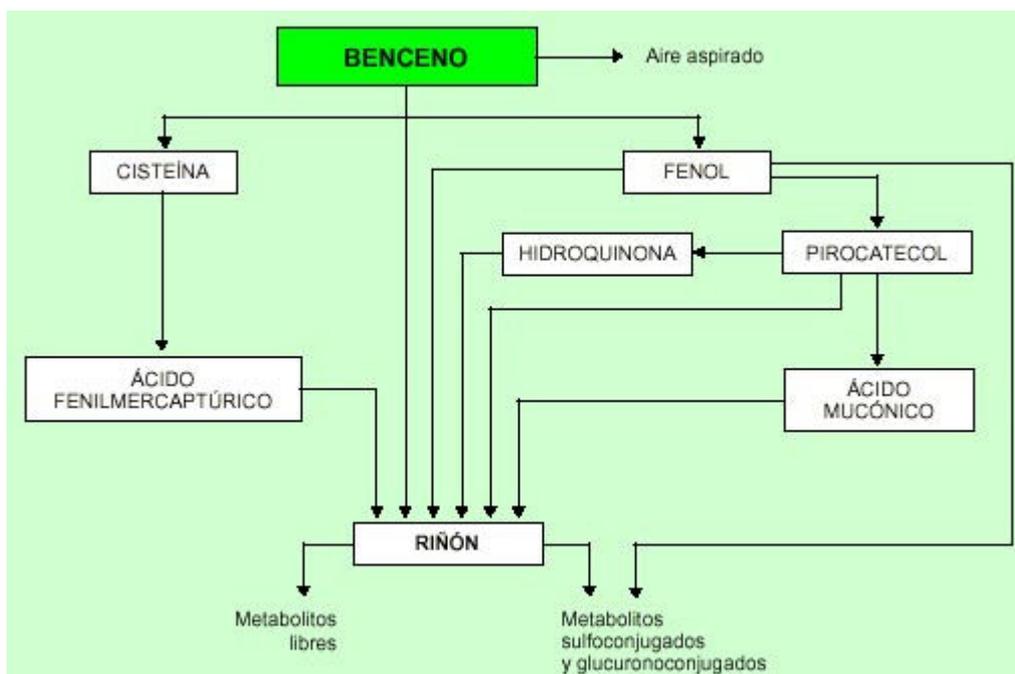
Por ello, lleva asociada la frase de riesgo R 45, puede causar cáncer. También está clasificado como fácilmente inflamable, R 11, y tóxico, R 48/23/24/25, riesgo de efecto grave para la salud en caso de exposición prolongada por inhalación, contacto con la piel e ingestión (**R.D. 363/1995**). El **R.D. 665/1995** sobre protección de la exposición a sustancias cancerígenas en el trabajo define las sustancias cancerígenas como aquellas de las que se dispone de elementos suficientes para establecer la existencia de una relación de causa/efecto entre la exposición del hombre a tales sustancias y la aparición del cáncer.

## Metabolismo del benceno

El benceno penetra en el organismo principalmente por inhalación, aunque la absorción cutánea es también posible.

Después de su absorción, el benceno es eliminado inalterado en la orina (menos del 1%) y en el aire expirado (10 a 50% según la actividad física y la importancia del tejido adiposo); el resto es biotransformado. La mayor parte del benceno absorbido es metabolizado, básicamente en el hígado y la médula ósea, por oxidación a fenol, quinol y catecol, que se excretan en la orina en forma de sulfatos y glucuronatos. Como otros metabolitos, se citan el ácido S-fenilmercaptúrico y los ácidos transtrans mucónicos. Ver cuadro 1.

### Cuadro 1. Esquema del metabolismo del benceno



La metabolización y eliminación del benceno es rápida. La excreción de los metabolitos se completa generalmente dentro de las 24-48 horas después de una exposición única, lo que representa una vida media biológica inferior a las 12 horas. Sin embargo, los tejidos adiposos pueden retener una pequeña cantidad de benceno durante varios días después del final de la exposición.

## Personal expuesto

Se hallan expuestos a benceno los trabajadores de petroquímicas, gasolineras, aparcamientos subterráneos, talleres mecánicos y los fumadores. Debido a que es un contaminante ambiental la población en general también padece exposición crónica a bajas concentraciones, siendo la más afectada la residente en las zonas de más emisión: cerca de gasolineras y de tanques de almacenamiento de combustibles y en zonas con mucho tráfico.

## Valores Límite

La **Directiva 97/42/CE**, modificación de la **90/394/CEE**, que es la directiva transpuesta en el **R.D. 665.1997** sobre cancerígenos, establece un valor límite de exposición profesional (límite de la media ponderada de la concentración en el aire dentro de la zona de trabajo durante 8 horas) de 1 ppm adoptándose una medida transitoria de 3 ppm hasta el año 2000. Además cuando se evalúe el riesgo, habrá que tener en cuenta las demás vías de exposición como la absorción en la piel o a través de ella.

La American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH, USA, 1998) tiene fijado un valor promedio máximo permisible en aire para 8h/día y 40 h/semana (TLVTWA) de 0,5 ppm (1,6 mg/m<sup>3</sup>); un valor para exposiciones de corta duración (TLVSTEL) de 2,5 ppm (8 mg/m<sup>3</sup>), y un índice biológico de exposición (BEI) de 25 mg/g de creatinina de ácido S-fenilmercaptúrico (SPMA) en orina al final del turno. Asimismo, lo clasifica como una sustancia con un elevado poder de penetración a través de la piel.

Índices de exposición biológica propuestos anteriormente han sido descartados por perder

su significación al fijarse valores límites ambientales más bajos, como ocurre con la determinación de fenol en orina. Por otro lado, marcadores como la concentración de benceno inalterado en aire exhalado y en orina van ganando terreno, aunque no existen por el momento valores de referencia establecidos de una manera formal. Estos procedimientos se basan en mejoras analíticas instrumentales que permiten la determinación de concentraciones muy bajas de benceno, ya que, como se ha comentado antes, la fracción no metabolizada del producto es muy pequeña.

## Control ambiental de la exposición

Existen varios procedimientos descritos para la toma de muestras y análisis de benceno en aire que se resumen a continuación. Su captación puede llevarse a cabo mediante toma de muestras dinámica (tubo de carbón activo y bomba de aspiración) o bien utilizando muestreadores pasivos. El análisis se realiza en ambos casos por Cromatografía de Gases con detector F.I.D. ó P.I.D.

### Método MTA/MA030/A92

#### Captación de la muestra

Toma de muestra: tubos de carbón activo (100/150) tipo NIOSH 1500

Caudal: < 200 ml/min, Vol. 5 litros.

Estabilidad de la muestra: a 4 °C hasta veintiún días después de la captación.

Margen estudiado: 3 mg/m<sup>3</sup> hasta 70 mg/m<sup>3</sup>.

#### Análisis de la muestra

Técnica: Cromatografía de gases y detector de ionización de llama (FID).

Columna: Acero inoxidable 6 m x 3 mm de diámetro externo 10% FFAP en Chromosorb WAWDMCS 80/100.

Temperatura: 100 °C

Límite de detección: no determinado

### Método NIOSH 3700

#### Captación de la muestra

Toma de muestra: Bolsa.

Caudal: de 0.02 a 5L/min.

Estabilidad de la muestra: < 4 horas.

Margen estudiado: 0.03 a 100 ppm.

#### Análisis de la muestra

Técnica: Cromatografía de Gases y detector de fotoionización (PID), portátil.

Columna: capilar de CPSil 5CD Macrobore

Temperatura: 30 °C isoterma.

Límite de detección: 0.01 ppm para 1 ml de inyección.

## **Método NIOSH 1500**

### **Captación de la muestra**

Toma de muestra: Tubo de carbón activo de coco (100/50).

Caudal : < 0.20 L/min; Vol: 5 L (min) y 30 L (max).

Estabilidad de la muestra: hasta 2 semanas.

Margen estudiado: 0.09 a 0.35mg

### **Análisis de la muestra**

Técnica: Cromatografía de gases y detector FID.

Columna de vidrio de 3 m x 2 mm, 20% SP2100 sobre Supelcoport 80/100 u otra equivalente.

Temperatura: programada 50 °C (inicial) 15 °C/min hasta 150 °C

Límite de detección: 0.001 a 0.01 mg por muestra en columna capilar.

## **Método 3M Monitores pasivos**

### **Captación de la muestra**

Toma de muestra: monitor pasivo 3M3500 para vapores orgánicos.

Tiempo de toma de muestra: > 2 horas.

Estabilidad de la muestra: hasta 2 semanas

Margen estudiado : 1 a 33 mg/m<sup>3</sup>

### **Análisis de la muestra**

Técnica: Cromatografía de gases y detector FID.

Columna: Capilar 50 m x 0.2 mm de diámetro interno y 0.5 mm de espesor de capa.

Temperatura: 100 °C isoterma

Límite de detección: 0,001 mg/muestra con un tiempo mínimo de toma de muestra de 2

horas.

## Control biológico

Dada la pequeña vida media biológica del benceno (12 horas), el tiempo al cual se debe tomar la muestra, en relación con la exposición, es muy importante. Cuando se trate de muestreo y análisis de orina y aire exhalado, es también importante la estandarización de los métodos de toma de muestras y, el caso de la orina, la forma de expresar los resultados.

### Concentración de benceno en aire exhalado

Las curvas de eliminación de benceno en aire exhalado tienen tres fases: una de caída muy rápida, entre 1 y 2 horas después de la exposición; otra de caída menos rápida, a las pocas horas siguientes y, por último, una situación de descenso hasta los niveles normales de fondo en un periodo de 70 horas. Para el control rutinario, se propone que las muestras se tomen al final del turno de trabajo, analizándose lo antes posible. Debe tenerse en cuenta también que la inhalación o ingesta de alcohol etílico acelera la eliminación de benceno en el aire exhalado y que el tabaquismo puede alterar el resultado (el humo de cigarrillos contiene alrededor de 50-60 ppm de benceno). Se ha propuesto un límite de exposición biológico de 0.12 ppm, equivalente a una exposición de 8 horas a 10 ppm, detectados 16 horas después del final de la exposición. El análisis se realiza por Cromatografía de Gases según el procedimiento descrito a continuación.

### Toma de muestras

La muestra de aire respirado se capta justo antes de comenzar el siguiente turno. La muestra se recoge directamente en un tubo adsorbente.

### Tratamiento de la muestra

El benceno se desorbe térmicamente. No se precisa preparación previa de la muestra.

Estabilidad de la muestra: 1 semana como mínimo.

### Análisis de la muestra

Técnica: Cromatografía de gases y detector FID

Temperatura de la columna a 40 °C (10min) hasta 190 °C a 15 °C/min y se mantiene durante 5 minutos

Columna: columna capilar no polar 60m, DB-1, 0.25 mm, 1 mm

Límite de detección: 0.05 ng que corresponde a 0.5 mg/m<sup>3</sup> para un volumen de muestreo de 100µ

### Concentración de benceno en sangre

La determinación de benceno en sangre es poco utilizada para evaluar la exposición debido a que es un método invasivo.

## Concentración de benceno en orina

Existe una buena correlación entre la exposición a benceno y su excreción inalterada urinaria, por lo que es posible el control biológico de personas expuestas a bajas concentraciones de benceno por este método. También en este caso debe tenerse en cuenta el efecto de factores de confusión, como el humo de los cigarrillos. Igual como ocurre con la utilización del SPMA, este procedimiento permite diferenciar entre fumadores y no fumadores. El análisis se realiza por Cromatografía de Gases según el método descrito a continuación (INSHT, ITB/176.96).

### Toma de muestras

La muestra de orina se recoge al final del turno de trabajo.

### Tratamiento de la muestra

Una vez recogida la orina y de una forma inmediata se pasa a un vial de 20 ml provisto de cierre hermético. Esta operación debe realizarse en un área cuya atmósfera esté libre de disolventes y el vial debe estar lo más lleno posible con el fin de evitar pérdidas en el espacio de cabeza. Como antiespumante se ha utilizado n-octanol.

- Almacenamiento: en nevera a 4 °C hasta el momento de su análisis (< 30 días).
- Tratamiento de la muestra: Se realiza la extracción del benceno de la orina mediante un sistema de purga y trampa descrito en el método 502 de la EPA (1986). El extracto se adsorbe en un tubo que contiene Tenax y se analizan mediante desorción térmica y Cromatografía de gases.

### Análisis de la muestra

- Condiciones de la desorción térmica:

1ª Etapa Temperatura del horno 220 °C

Temperatura de la trampa fría -30 °C

Tiempo de desorción 6 min

2ª Etapa Temperatura de la trampa 220 °C

- Condiciones cromatográficas:

Columna capilar DB-624 de 75m; 0,53mm, 3µm

Detector FID a 250 °C

Temperatura de la línea de transferencia 200 °C

Temperatura de la columna a 40 °C (5 min) hasta 160 °C a 5 °C/min (1min) y de 160 °C a 210 °C a 10 °C/ min (5 min)

Es muy importante la limpieza del material y el control de blancos.

El límite de detección es de 13 ng/L.

## Concentración de ácido S-fenilmercaptúrico (SPMA) en orina

La determinación del ácido SPMA en orina, se considera actualmente el biomarcador más adecuado para el control de bajas exposiciones a benceno, siendo lo suficientemente sensible y específica como para controlar exposiciones laborales. La concentración media, al final del turno, de SPMA en orina de trabajadores expuestos a 1 ppm de benceno durante 8 horas es de 46 mg/g de creatinina.

Los métodos analíticos desarrollados para la cuantificación de SPMA permiten la determinación de este metabolito en la orina tanto de personas expuestas como de no expuestas, fumadoras y no fumadoras.

Los niveles de fondo de SPMA excretados en la orina de personas no fumadoras, debido a los niveles de benceno presentes en el medio ambiente especialmente en zonas urbanas, son mucho más bajos.

Los niveles urinarios de SPMA en personas fumadoras están muy correlacionados con las cantidades de benceno en orina, y la media de concentración de éste metabolito en la orina de personas fumadoras es 7 veces superior a los niveles de las personas no fumadoras. Esto confirma que los fumadores activos es una fuente de exposición no ocupacional al benceno importante.

Los métodos analíticos propuestos en la bibliografía para la cuantificación de fenilmercaptúrico están basados en Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (GC-EM), Cromatografía de Gases-Detector de Captura de Electrones (GC-ECD), Cromatografía en capa fina (TLC), o Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detección ultravioleta (UV), fluorimétrica (FD) y electroquímica (ED).

En el cuadro 2 se detallan los procedimientos por GC-EM y HPLC/ED.

### Cuadro 2. Determinación de ácido fenilmercaptúrico en orina

<b>Método de Cromatografía de Gases Espectrometría de masas</b>
<b>Toma de muestras</b>
La muestra de orina se recoge al final del turno de trabajo.
<b>Tratamiento de la muestra</b>
Un volumen de orina (5 ml) que contiene 100 ng de ácido S-p fluorofenil mercaptúrico como patrón interno, es extraído 2 veces con 30 ml de acetato de etilo. Las fases orgánicas son combinadas, evaporadas a sequedad y metilada con 3 ml de diazometano.
<b>Análisis de la muestra</b>
Técnica: Cromatografía de gases-Espectrometría de masas.
Columna capilar. DB5, 30 m x 0.3 m
Límite de detección 1 µg/L.
<b>Método de Cromatografía Líquida de Alta Resolución</b>
<b>Toma de muestras</b>
La muestra de orina se recoge al final del turno de trabajo.

**Tratamiento de la muestra**

Acidificar la orina (pH 1) con HCl y pasarla a través de un cartucho Sep-Pak C18. Los cartuchos son lavados con HCl diluido y una mezcla de agua/metanol/ácido acético y luego se eluye con cloroformo acidificado. El eluido es evaporado y reconstituido con tampón fosfato, luego se pasa a través de un cartucho de intercambio aniónico (SAX), el cual es lavado con tampón y HCl diluido. El ácido S-fenilmercaptúrico es recuperado eluyéndolo con tampón concentrado y es transformado en S-fenilcisteína. Se derivatiza con o-ftalaldehído (OPA) y 2-mercaptoetanol (MCE).

**Análisis de la muestra**

Técnica: Cromatografía Líquida de Alta Resolución.

Columna: Supelcosil C18, 150 x 4,6 mm, 3 µm

Detector de fluorescencia: Longitud de onda de excitación 330 nm.

Longitud de onda de emisión 440 nm.

Límite de detección: 0.5 µg/L.

## Comentarios

Los valores límite permitidos de exposición a benceno son cada vez más bajos, lo que, en consecuencia, implica unos indicadores biológicos más sensibles y más específicos. El hecho de que la población general esté también expuesta al benceno presente en la atmósfera (los fumadores, además, al proveniente del humo del tabaco) y que en espacios interiores se halle también benceno, sugieren que los procedimientos para su control ambiental y biológico deben establecerse mediante métodos analíticos suficientemente sensibles y específicos que cubran, en el caso de los biológicos, la diferenciación entre fumadores y no fumadores.

## Bibliografía

(1) Comisión de los Länder para la protección en el trabajo y la técnica de seguridad (LASI) **Protección de mujeres embarazadas contra la exposición al benceno de venta de gasolineras y en otros puestos de trabajo (1997)**

(2) A.C.G.I.H.

**Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices for 1998.**

A.C.G.I.H., Cincinnati, Oh, U.S.A. (1998)

(3) BOOGAARD. P.J. et al.

**Biological monitoring of exposure to benzene: a comparison between Sphenylmercapturic acid, trans, transmuconic acid, and phenol**

Occupational and Environmental Medicine. (1995); 52:611-620

(4) GHITTORI.S. et al.

**Evaluation of occupational exposure to benzene by urinalysis**

Int Arch Occup Environ Health (1995) 67: 195-200

(5) INSHT

**Determinación de hidrocarburos aromáticos (benceno, tolueno, etilbenceno, p-xileno, 1, 2,4, trimetilbenceno) en aire-método de adsorción en carbón**

**activo/Cromatografía de Gases. MTA/MA-030/A92.**

(6) LAUWERYS, R.

**Control biológico humano de una serie de compuestos químicos industriales: Benceno**

Generalitat Valenciana. Conselleria de Sanitat y Consum (1992)

(7) Maestri L.

**Determination of Specific Mercapturic Acids as an Index of Exposure to Environmental Benzene, Toluene, and Styrene**

Industrial Health (1997),35,489-501

(8) N.I.O.S.H.

**Hydrocarbons, BP 36-126 °C. N.I.O.S.H. nº 1500**

N.I.O.S.H. Manual of Analytical Methods 4th edition

**Legislación:**

(9) **97/42/CE**. Directiva del Consejo de 27.6.1997 por la que se modifica por primera vez la **Directiva 90/394/CEE** relativa a la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes carcinógenos durante el trabajo (Sexta Directiva específica con arreglo al apartado 1 del artículo 16 de la **Directiva 89/391/CEE**).

(10) **98/24/CE**. Directiva del Consejo de 7.4.1998 relativa a la protección de la salud y la seguridad de los trabajadores contra los riesgos relacionados con los agentes químicos durante el trabajo (decimocuarta Directiva específica con arreglo al apartado 1 del artículo 16 de la **Directiva 89/391/CEE**).

(11) **665/1997** Real Decreto de 12.5.1997 sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes cancerígenos durante el trabajo.