

Validación de un método de cromatografía líquida (HPLC-UV/Vis) para la cuantificación de aldehídos agua de lluvia y aire

Validation of a method (HPLC-UV/Vis) for the quantification of aldehydes in rainwater and air

Melissa Araya Araya^a, melissa.araya.araya@una.est.ac.cr, Orcid ID: <https://orcid.org/0000-0002-6866-9603>

José Pablo Sibaja Brenes^a, jose.sibaja.brenes@una.cr, Orcid ID: <https://orcid.org/0000-0002-7056-2717>

Roy Soto Fallas^b, roy.soto.fallas@una.ac.cr, Orcid ID: <https://orcid.org/0000-0001-6983-540X>

José Carlos Mora-Barrantes^a, jose.mora.barrantes@una.cr, Orcid ID: <https://orcid.org/0000-0002-0409-5276>

Rosa Alfaró Solís^a, rosa.alfaro.solis@una.cr, Orcid ID: <https://orcid.org/0000-0001-7413-4210>

Henry Borbón-Alpízar^a, henry.borbon.alpizar@una.cr, Orcid ID: <https://orcid.org/0000-0003-0869-4126>

Juan Valdés González^a, juanvalde@gmail.com, Orcid ID: <https://orcid.org/0000-0002-8641-927X>

^a Laboratorio de Química de la Atmósfera, Escuela de Química, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.

^b Laboratorio de Productos Naturales y Ensayos Biológicos, Escuela de Química, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.

Resumen

Los aldehídos son compuestos presentes en la atmósfera que se forman por la degradación fotoquímica de otros compuestos orgánicos en la tropósfera, pueden ser emitidos por fuentes naturales o antropogénicas. En el presente trabajo se implementó un método analítico para la cuantificación de muestras de aldehídos en matrices como aire y agua de lluvia. El muestreo y el análisis de los aldehídos utilizó la metodología TO-11 de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA). El muestreo se realizó mediante el uso de cartuchos de adsorción recubiertos con una disolución de 2,4-DNFH, formando una hidrazona con los aldehídos presentes en el agua de lluvia y en el aire. Estos fueron analizados mediante un cromatógrafo de líquido acoplado a un detector UV-Visible (HPLC-UV/Vis). Para la validación de la técnica de análisis y la calidad analítica de los resultados se determinaron: linealidad, sensibilidad, límites de cuantificación, límites de detección, repetibilidad, reproducibilidad y el porcentaje de recuperación. En el caso de la repetibilidad, se utilizó la comparación del coeficiente de variación de Horwitz con los porcentajes de desviación estándar relativo (% DER) de las muestras. Los límites de detección obtenidos oscilan entre 0,18 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ para el acetaldehído y 3,20 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ en el caso de la acroleína, mientras que los límites de cuantificación están entre 0,62 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ para el acetaldehído y 4,70 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ para el heptanal, datos que garantizan la calidad analítica del método. En general, el método de análisis para los aldehídos mostró buena correlación lineal, con valores de R^2 igual o mayores a 0,9991 para cada curva de calibración, y valores de porcentajes de desvío relativo menores al 2,25 %, indicando una buena precisión en el análisis.

Palabras clave: Aldehídos, agua de lluvia, cromatografía de gases, validación, límites de detección y límites de cuantificación.

Abstract

Aldehydes are compounds present in the chemistry of the atmosphere that are formed by the photochemical degradation of other organic compounds in the troposphere, can be emitted by natural or anthropogenic sources. In the present work, an analytical method was implemented for the quantification of aldehyde samples in matrices such as air and rainwater. The sampling and analysis of the aldehydes were performed by TO-11 methodology of the United States Environmental

Protection Agency (EPA). The sampling was carried out by using adsorption cartridges coated with a 2,4-DNFH solution, forming a hydrazone with the aldehydes present in the rainwater and in the air. These were tested using a liquid chromatograph coupled to a UV-Visible detector (HPLC-UV/Vis). For the validation of the analysis technique and the analytical quality of the results, the following were determined: linearity, sensitivity, limits of quantification, detection limits, repeatability, reproducibility and the recovery percentage. The comparison of the Horwitz coefficient of variation with the percentages of relative standard deviation (% DER) of the samples was used. The detection and quantification limits obtained range between 0.18 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ for acetaldehyde and 3.20 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ for acrolein, while the quantification limits are between 0.62 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ for acetaldehyde and 4.70 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ for heptanal, data according with quality in the analytical method. In general, the analysis method for aldehydes showed linearity, with R^2 values equal to or greater than 0.9991 for each calibration curve, and relative deviation percentage values less than 2.25 %, indicating good precision in the analysis.

Keywords: Aldehydes, rainwater, gas chromatography, validation, detection limits and quantification limits.

Introducción

Los aldehídos son componentes importantes de la química atmosférica y se forman por la degradación fotoquímica de otros compuestos orgánicos, mediante reacciones fotoquímicas en la tropósfera (Wade, 2012; Seinfeld y Pandis, 2006). También pueden ser emitidos a la atmósfera por fuentes biogénicas o antropogénicas (Peñuelas y Lluisa, 2002; Pichersky y Gershenzon, 2002; Luecken *et al.*, 2021; Muños y Grau, 2013).

En relación con las fuentes naturales, particularmente en los ecosistemas forestales del trópico, existe una gran cantidad de compuestos orgánicos volátiles biogénicos (COVBs), los cuales comprenden alrededor del 90 % (1150 TgC/año) de las emisiones globales de los compuestos orgánicos volátiles (COV) (Mielke *et al.*, 2010). Sus emisiones influyen en la producción de ozono troposférico, en la oxidación del metano y en la producción global de monóxido de carbono en el ciclo del carbono (Peñuelas y Lluisa, 2002).

Por otro lado, la mayoría de los hidrocarburos de origen antropogénico son emitidos por la combustión de vehículos y motores de combustión interna. La oxidación de estos origina diversos compuestos como aldehídos, cetonas, ácidos orgánicos, peróxidos, entre otros. La condensación de aldehídos y cetonas generan aerosoles de olor peculiar, que además limitan la visibilidad (Muños y Grau, 2013).

Para la recolección de muestras de aldehídos en aire y agua de lluvia se pueden tener opciones como impingers o burbujeadores (Guash, 1983; Hernández, 2001), denuders (Gallego *et al.*, 2010; Vega, 2000) y/o mediante el uso de cartuchos de adsorción en fase sólida (Delgado, 2009; Herrington *et al.*, 2005). Los posteriores análisis químicos para la determinación de la concentración de los aldehídos varían en función del tipo de equipo utilizado para el muestreo. En el caso de captación de las muestras mediante el uso de impingers, el método de análisis recomendado es la espectrofotometría (Gasparini *et al.*, 2008). Para muestras recolectadas por medio de denuders o cartuchos de adsorción, el método de análisis que mayor resultado ofrece es la cromatografía líquida de alta presión (HPLC) (Salazar, 2016). Con respecto al uso de la cromatografía de gases (GC), los aldehídos se cuantifican por medio de un agente derivatizante como el *o*-(2,3,4,5,6-pentafluorobencil)-hidroxilamina (PFBHA) en ácido clorhídrico (HCl). Los aldehídos reaccionan selectivamente con el agente derivatizante (PFBHA) para formar un complejo entre este y las oximas. La identificación de los compuestos se realiza al comparar los tiempos de

retención de los estándares con los obtenidos de las muestras, la confirmación se realiza, utilizando espectrometría de masas (Luo *et al.*, 1992).

En relación con el uso de la técnica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) como metodología de análisis, es posible la cuantificación de aldehídos como: acroleína, benzaldehído, butiraldehído, crotonaldehído, formaldehído y propionaldehído, por la separación de sus derivados de 2,4-dinitrofenilhidrazona (2,4-DNPH). Se derivatizan las muestras con la 2,4-DNPH en HCl 0,1 mol/L y se extrae con cartuchos en acetonitrilo, para preconcentrar los compuestos. Posteriormente, se miden en una columna C18 de HPLC de fase inversa, con elución isocrática, utilizando acetonitrilo acuoso (65:35), y analizándose con detección ultravioleta (UV) a 360 nm (Peña *et al.*, 2002).

Las técnicas anteriores son métodos analíticos cuyo alcance es la determinación y la cuantificación de aldehídos en matrices similares a muestras de aire y agua de lluvia. No obstante, no limita la cuantificación de aldehídos mediante la modificación de los métodos anteriores o inclusive mediante el desarrollo, validación e implementación de un nuevo método. Sin embargo, es importante resaltar que al utilizar un método fuera del alcance de la norma de referencia, es requisito la realización de estudios pertinentes para asegurar que el nuevo método continúa siendo técnicamente apto para su uso (Calderón *et al.*, 2016). Según Taylor (1983), el proceso de validación tiene el objetivo de verificar que la metodología utilizada está fundamentada con principios sólidos, ya sea que hayan sido planificados o modificados con fines prácticos de medición. Entre los parámetros de desempeño utilizados y/o recomendados por otros autores e investigadores para la validación de un método están: ámbito de trabajo, linealidad, sensibilidad, precisión (respetabilidad y respetabilidad intermedia), exactitud (recuperación), límite de detección (LD), límite de cuantificación (LQ) y la incertidumbre de medición (Calderón *et al.*, 2016; Taylor 1983; Ellison *et al.*, 2009; Ramsey y Ellison, 2007; Burn, 2002; Barwick y Ellison, 2000; Miller y Miller, 2002).

En el presente trabajo de investigación se tiene como objetivo principal validar un método analítico que permita la cuantificación de muestras de aldehídos en matrices como aire y agua de lluvia.

Metodología

Calidad analítica del método

Para el muestreo y el análisis de los aldehídos se utilizó la metodología TO-11A, planteada por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos. Para la validación se utilizaron cartuchos de adsorción recubiertos con una disolución de la 2,4-DNFH, formando una hidrazona con los aldehídos presentes en las disoluciones utilizadas. Posteriormente, fueron analizados mediante un cromatógrafo líquido acoplado a un detector UV-Visible. Las condiciones de análisis para la determinación de los aldehídos fueron las siguientes (EPA, 1999):

- Columna Agilent C18, 150 mm de longitud y 4,6 mm de diámetro interno.
- Detector Dionex UV-Vis
- Temperatura del horno: 45°C
- Fase móvil: acetonitrilo:agua 60:40
- Flujo: 1,2 mL/min
- Longitud de onda ($\lambda = 365$ nm)

Se utilizó el programa Chromeleon 6.0 para determinar las áreas de los patrones y de las muestras, posteriormente las concentraciones se determinaron mediante el programa Microsoft Excel 2016.

Para la validación de la técnica de análisis y la garantía de la calidad analítica de los resultados se determinaron la; linealidad, la sensibilidad, el límite de cuantificación, el límite de detección (todos obtenidos a partir de las curvas de calibración). Se evaluaron además otros parámetros como: la repetibilidad, la reproducibilidad y el porcentaje de recuperación. Se utilizó el coeficiente de variación de Horwitz para la comparación con los porcentajes de desviación estándar relativo (%DER) de las muestras.

Para analizar la linealidad reportada por el equipo, se prepararon 5 curvas de calibración con la variación de la concentración de los aldehídos, dos curvas fueron generadas previo al muestreo y tres fueron desarrolladas cada vez que se analizaron las muestras tomadas en el sitio de muestreo. El valor del coeficiente de determinación R^2 de la curva de calibración se utilizó como criterio de linealidad. La sensibilidad se determinó a partir de la pendiente de la curva de calibración. Este valor corresponde a la gráfica de área de las muestras contra concentración de los patrones.

Con respecto al coeficiente de variación de Horwitz, se hizo el análisis al considerar que la desviación estándar de un conjunto de muestras varía con la concentración del analito. Una aproximación para esta variación es la utilización de una relación funcional entre la concentración y la desviación estándar. La óptima relación que se conoce es la trompeta de Horwitz, la cual fue obtenida a partir de un estudio estadístico (Figura 1), para el cual, el coeficiente de variación de los valores medios dados por diferentes laboratorios aumentaba a medida que disminuía la concentración del analito, demostrándose que la desviación estándar relativa de un método varía con la concentración, de acuerdo con la Ecuación 1 (Miller y Miller, 2002).

$$CV = 2^{(1,5-\log(C))} \text{ [Ecuación 1]}$$

En la Ecuación 1, “CV” es el coeficiente de variación y “C” es la concentración de la muestra expresada como potencia de 10 (1 ppb = 10^{-9} , 1 ppm = 10^{-6} , 1 % = 10^{-2} , 10 % = 10^{-1}). Este cálculo se utilizó con el fin de determinar si los %DER se encontraban por debajo del CV de Horwitz. De este análisis se obtuvo el coeficiente de variación máximo esperado para las muestras de aire y de agua de lluvia.

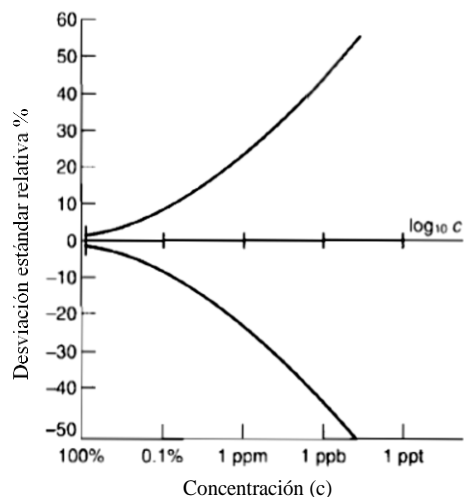


Figura 1. Trompeta de Horwitz.
Nota: Tomado de Miller y Miller, 2002

Por su parte los valores del límite de detección (LD) límite de cuantificación (LC) se obtuvieron a partir del método estadístico propuesto por Miller y Miller (2002). El LD se determinó a partir de la desviación estándar del ajuste ($s_{x/y}$) y el valor del intercepto (b) de la curva de calibración. Este se obtiene como la concentración correspondiente a la respuesta calculada, utilizando el valor del intercepto del ajuste de calibración más tres veces la desviación estándar del ajuste a un nivel de confianza del 95 %, como se muestra en la Ecuación 2 (Miller y Miller, 2002). Para obtener el valor de la desviación estándar del ajuste ($s_{x/y}$) se utilizó la Ecuación 3.

$$LD = b + 3 * \frac{s_{x/y}}{y} \quad \text{[Ecuación 2]}$$

$$s_{x/y} = \sqrt{\frac{\sum(y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}} \quad \text{[Ecuación 3]}$$

Donde:

y : valor obtenido de la curva de calibración de los estándares

\hat{y}_i : valores de “ y ” ajustados por medio de la ecuación de la curva de calibración

n : puntos de la curva de calibración.

El LC se determinó de manera análoga al LD; según Miller y Miller (2002), se expresa como la señal del intercepto más 10 veces su desviación estándar (Ecuación 4).

$$LD = b + 10 * \frac{s_{x/y}}{y} \quad \text{[Ecuación 4]}$$

Estas respuestas son interpoladas en la ecuación de la curva de calibración para obtener la mínima concentración detectable y cuantificable (Miller y Miller, 2002). Para evaluar la repetibilidad se determinó el porcentaje de desviación estándar relativa (%DER),

por medio de 8 repeticiones de un patrón mixto de $(3,84 \pm 0,58)$ mg/L de la hidrazona del formaldehído, acetaldehído, propanal y butanal, y de $(7,0 \pm 1,2)$ mg/L de la hidrazona del hexanal, heptanal y acroleína. El patrón fue utilizado el mismo día, por el mismo analista, con el mismo equipo y bajo la misma metodología.

Para determinar la reproducibilidad, se inyectó por 5 días consecutivos un patrón mixto de $(0,88 \pm 0,14)$ mg/L de las hidrazonas de cada aldehído, por el mismo analista, el mismo equipo y mediante la misma metodología. Se utilizó el porcentaje de recuperación como criterio de reproducibilidad, y se calculó por medio de la concentración obtenida de cada inyección entre la concentración del patrón de cada aldehído multiplicado por 100.

Disolución de 2,4-DNFH

La preparación de la disolución de la 2,4-dinitrofenilhidrazina incluye; a) la recristalización de la 2,4-DNFH, b) la preparación de la disolución madre de la 2,4-DNFH y, c) la preparación de la disolución 0,40 mmol/L de 2,4-DNFH.

Con respecto a la recristalización de la 2,4-DNFH se procedió de la siguiente forma: se calentó un volumen de 600 mL de acetonitrilo grado HPLC a 80 °C, se disolvieron aproximadamente 10 g de cristales de la 2,4-DNFH hasta saturación. Se reposó la muestra por tres 3 horas, se enfrió a 0 °C y se filtró en un embudo Büchner. Se obtuvo un sólido de coloración rosada brillante, que posteriormente se secó en una estufa a 60 °C.

Por su parte, para la preparación de la disolución madre de la 2,4-DNFH se procedió a utilizar un vial de 10 mL en donde se disolvió 25 mg de los cristales de la 2,4-DNFH, obtenidos en 1 mL de acetonitrilo y 4 mL de ácido clorhídrico 5 mol/L. Esta disolución de 25 μ mol/L se colocó durante 1 hora en un baño ultrasónico a 50 °C, hasta disolución completa. La disolución se almacenó en frío en un lugar oscuro.

Para la preparación de la disolución 0,40 mmol/L de 2,4-DNFH, se desgasificó por aproximadamente 15 minutos con nitrógeno limpio y seco una mezcla de 32 mL de acetonitrilo y 164 mL de agua destilada y se le agregaron 3,2 mL de la disolución madre de la 2,4-DNFH.

Los cartuchos utilizados para el muestreo fueron tubos de vidrio de 6 cm de longitud, se rellenaron con 500 mg de octadecilo de sílice y se recubrieron con 2 mL de la disolución 0,40 mmol/L de la 2,4-DNFH. El pretratamiento de los cartuchos incluye su enjuague con 5 mL de acetonitrilo, posteriormente se agregó 2 mL de la disolución 0,40 mmol/L de la 2,4-DNFH y se enjuagaron nuevamente con 2 mL de acetonitrilo. Una vez preparados, se les agregó 3 mL de la disolución 0,40 mmol/L de la 2,4-DNFH. Finalmente, se secaron por aproximadamente 5 minutos con nitrógeno limpio y seco.

Una vez recubiertos los cartuchos, se sellaron con lámina de parafina, se cubrieron con papel de aluminio, y se colocaron en un recipiente plástico cerrado. Posteriormente, se almacenaron refrigerados a menos de 4 °C.

Curvas de calibración

Para la preparación de las curvas de calibración para el análisis de las muestras de aire y lluvia se utilizaron las siguientes disoluciones estándar de cada aldehído con su respectivo porcentaje de pureza; formaldehído al 37 %, acetaldehído al 99 %, propanal al 99 %, butanal al 99 % y hexanal al 99 %, heptanal al 99 %, acroleína al 99 %, todas estas disoluciones fueron grado HPLC.

Las disoluciones estándares de las hidrazonas correspondientes a cada aldehído a partir de la 2,4-DNFH se prepararon en un matraz erlenmeyer de 25 mL, donde se disolvieron

0,2 g de la 2,4-DNFH en 1 mL de ácido sulfúrico concentrado, seguidamente se agregó gota a gota 1,5 mL de agua destilada con agitación hasta disolución completa. La mezcla se calentó ligeramente y se le añadieron 5 mL de etanol al 95 %. Paralelamente, se preparó una disolución de cada aldehído en etanol, disolviendo 0,25 g de compuesto en 10 mL de etanol al 95 %. Esta disolución se mezcló con la disolución de las hidrazonas, dejándose reposar durante 24 horas a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se filtraron los sólidos y se secaron en una estufa a 60 °C.

Con respecto a la preparación de disoluciones madres de las hidrazonas se procedió de la siguiente forma; se pesó por separado 0,0010 g de la hidrazona de cada aldehído, las hidrazonas se disolvieron con acetonitrilo grado HPLC, se trasvasaron cuantitativamente a balones aforados de 10 mL y se llevaron a la marca de aforo con acetonitrilo.

Con respecto a los seis patrones de los aldehídos utilizados, estos se prepararon a partir de las disoluciones madres de las hidrazonas. La curva de calibración se preparó con: 0,2 mg/L, 0,4 mg/L, 0,8 mg/L, 1,6 mg/L, 3,2 mg/L y 6,4 mg/L de la hidrazona del formaldehído, del acetaldehído, del propanal y del butanal, y con: 0,4 mg/L, 0,8 mg/L, 1,6 mg/L, 3,2 mg/L, 6,4 mg/L y 12,8 mg/L de la hidrazona del hexanal, del heptanal y de la acroleína. Los cartuchos que se utilizaron como blancos se acondicionaron de la misma manera que los cartuchos para las muestras.

Análisis y resultados

La Tabla 1 contiene las concentraciones de las disoluciones madres de hidrazonas preparadas para cada aldehído. Las disoluciones patrón preparadas a partir de la disolución madre se muestran la Tabla 2, con su respectiva incertidumbre.

Tabla 1.

Concentración de las hidrazonas de cada aldehído en las disoluciones madres utilizadas para el control de la calidad analítica.

Aldehído	Concentración disolución madre (mg·L ⁻¹)
Formaldehído	17,1 ± 2,5
Acetaldehído	23,6 ± 3,5
Propanal	26,8 ± 4,3
Butanal	34,3 ± 5,0
Hexanal	39,3 ± 6,3
Heptanal	42,7 ± 6,8
Acroleína	28,5 ± 4,2

Tabla 2.

Concentración de cada aldehído en las disoluciones patrón utilizadas para la confección de las curvas de calibración.

Patrón	Formaldehído (mg·L ⁻¹)	Acetaldehído (mg·L ⁻¹)	Propanal (mg·L ⁻¹)	Butanal (mg·L ⁻¹)	Hexanal (mg·L ⁻¹)	Heptanal (mg·L ⁻¹)	Acroleína (mg·L ⁻¹)
1	0,0343 ± 0,0050	0,0472 ± 0,0070	0,0536 ± 0,0086	0,069 ± 0,010	0,157 ± 0,025	0,171 ± 0,027	0,114 ± 0,017

2	0,069 ± 0,010	0,094 ± 0,014	0,107 ± 0,017	0,137 ± 0,020	0,314 ± 0,050	0,341 ± 0,054	0,228 ± 0,034
3	0,137 ± 0,020	0,189 ± 0,028	0,215 ± 0,034	0,274 ± 0,040	0,63 ± 0,10	0,68 ± 0,11	0,456 ± 0,067
4	0,274 ± 0,040	0,377 ± 0,056	0,429 ± 0,069	0,549 ± 0,080	1,26 ± 0,20	1,37 ± 0,22	0,91 ± 0,13
5	0,549 ± 0,080	0,75 ± 0,11	0,86 ± 0,14	1,10 ± 0,16	2,52 ± 0,40	2,73 ± 0,44	1,82 ± 0,27
6	1,10 ± 0,16	1,51 ± 0,22	1,72 ± 0,28	2,20 ± 0,32	5,03 ± 0,81	5,46 ± 0,87	3,65 ± 0,54

La Tabla 3 muestra los valores del coeficiente de determinación (R^2) para cada uno de los aldehídos analizados, estos valores están muy cercanos entre sí, además de presentar una alta proximidad al valor ideal de 1. De acuerdo con Harris (2007) un valor de R^2 por encima de 0,995 es considerado un ajuste adecuado para la mayoría de los fines analíticos. Por lo tanto, los datos obtenidos en los análisis se consideran que representan una linealidad y una relación concentración-área aceptable.

Tabla 3.

Coefficiente de determinación (R^2) de las distintas curvas de calibración para el control de la calidad analítica.

Curva	Coeficiente de determinación (R^2)						
	Formaldehído	Acetaldehído	Propanal	Butanal	Hexanal	Heptanal	Acroleína
1	0,9995	0,9999	0,9995	0,9998	0,9996	0,9996	0,9995
2	0,9997	0,9998	0,9998	0,9995	0,9993	0,9998	0,9996
3	0,9996	0,9998	0,9994	0,9993	0,9995	0,9996	1,0000
4	0,9991	0,9999	0,9996	0,9998	0,9997	0,9998	0,9997
5	0,9991	0,9994	0,9994	0,9996	0,9995	0,9999	0,9995
Promedio	0,9994	0,9998	0,9995	0,9996	0,9995	0,9997	0,9997

Con respecto a la sensibilidad de método, se detalla en la Tabla 4 los valores de las pendientes de las curvas de calibración de los aldehídos analizados. La sensibilidad de calibración mide la capacidad de un método para distinguir pequeñas diferencias en la concentración de un analito, la cual corresponde a la pendiente de la curva de calibración obtenida a partir de gráfica del área contra concentración (Sierra *et al.*, 2010). De acuerdo con Castillo y colaboradores (1996) entre mayor sea la pendiente, mayor será la sensibilidad del método. Según la Tabla 4, tanto el propanal como el acetaldehído presentaron las mejores sensibilidades, con valores promedios de pendiente de 10,5379 y 9,7693 respectivamente. Por su parte el menor valor de pendiente promedio fue para el heptanal, con un valor de 2,8558.

Tabla 4.

Pendientes de las curvas de calibración de los aldehídos analizados en este estudio.

Curva	Formaldehído	Acetaldehído	Propanal	Butanal	Hexanal	Heptanal	Acroleína

1	7,0799	10,4410	8,8121	5,5722	4,5362	2,8425	4,1748
2	8,8998	9,7071	10,1170	5,6550	4,9790	2,8468	4,2353
3	8,6292	9,4057	11,3520	5,4529	4,6778	2,7376	4,5790
4	7,7112	9,6674	11,3030	5,8076	5,1688	2,9317	4,7157
5	7,9447	9,7601	11,1040	5,9151	5,1067	2,9205	4,7295
Promedio	8,0530	9,7963	10,5376	5,6806	4,8937	2,8558	4,4869

La Tabla 5 muestra los resultados del coeficiente de variación de Horwitz (expresado como %DER) y los valores de área para un patrón mixto, ambos datos utilizados para determinar la repetibilidad.

Este coeficiente se determinó con el fin de establecer los valores máximos de %DER que las muestras de aldehídos podrían obtener, al compararlos. Todos los valores (Tabla 5) están por debajo del coeficiente de variación establecido por Horwitz, lo que indica que las mediciones de las muestras de los aldehídos no deben repetirse.

Se muestra en la Tabla 5, los valores del área obtenida y el % DER para las 8 repeticiones de las inyecciones (realizadas en un mismo día) para un patrón mixto de $(3,84 \pm 0,58)$ mg/L de la hidrazona del formaldehído, acetaldehído, propanal y butanal), y de $(7,0 \pm 1,2)$ mg/L de la hidrazona del hexanal, heptanal y acroleína). Se observa que los valores del %DER están por debajo del 2 %, lo que indica que la precisión del método es aceptable (Sierra *et al.*, 2010), con excepción del acetaldehído y del propanal. Sin embargo, los valores de %DER de estudios similares reportados por Salazar (2016) están entre 2 % y un 5 %, mientras los obtenidos por Vega (2000), se encuentra entre el 10 % y el 13 %. Esto indica que el presente método de análisis es más preciso (comparados con Salazar (2016) y Vega (2000)), siendo aceptable para el alcance del estudio, ya que se trata de muestras ambientales, que poseen una alta variabilidad en su composición.

Tabla 5.

Áreas de un patrón mixto de los aldehídos a analizar por HPLC en un acoplado a un detector ultravioleta para la determinación de la repetibilidad.

Área ($\pm 0,050$ mAu•min)							
Repetición	Formaldehído	Acetaldehído	Acroleína	Propanal	Butanal	Hexanal	Heptanal
1	4,760	7,220	8,080	7,640	5,760	12,550	7,660
2	4,670	6,660	8,280	7,180	5,930	12,690	7,690
3	4,780	6,930	8,460	7,240	5,790	12,680	7,370
4	4,750	6,940	8,480	7,300	5,870	12,610	7,670
5	4,710	6,850	8,300	7,160	5,980	12,70	7,520
6	4,710	6,850	8,420	7,340	5,850	12,620	7,460
7	4,720	6,930	8,410	7,270	5,820	12,630	7,620
8	4,690	6,870	8,450	7,210	5,860	12,660	7,670
Promedio ($\pm 0,050$)	4,720	6,910	8,360	7,290	5,860	12,640	7,580
Desviación estándar ($\pm 0,005$)	0,037	0,155	0,135	0,153	0,072	0,050	0,119
%DER ($\pm 0,11$)	0,78	2,25	1,61	2,09	1,22	0,40	1,56

El porcentaje de recuperación de los aldehídos por el método de HPLC acoplado a un detector ultravioleta (Tabla 6) se determinó mediante la inyección de un patrón mixto de $(0,88 \pm 0,14)$ mg/L de las hidrazonas de cada aldehído durante 5 días consecutivos para tener 5 repeticiones de cada patrón. La Tabla 6 muestra valores de porcentajes de recuperación entre el 94 % al 107 % para los aldehídos analizados. El propanal fue el analito con los porcentajes de recuperación más bajos, con valores entre el 94 % y el 97 %, mientras que el hexanal reportó valores más altos, con recuperaciones entre un 98 % a 107 %. Esto indica que el método es reproducible y apto para el análisis a efectuar, ya que los porcentajes de recuperación están cercanos al 100 % de respuesta.

Tabla 6.

Porcentaje de recuperación de los aldehídos por el método de HPLC acoplado a un detector ultravioleta.

Concentración nominal por aldehído (mg•L ⁻¹)	Porcentaje de recuperación (%)
Formaldehído (0,1372 mg•L ⁻¹)	97 a 104
Acetaldehído (0,1887 mg•L ⁻¹)	96 a 99
Acroleína (0,2279 mg•L ⁻¹)	95 a 101
Propanal (0,2146 mg•L ⁻¹)	94 a 98
Butanal (0,2744 mg•L ⁻¹)	98 a 102
Hexanal (0,3145 mg•L ⁻¹)	98 a 107
Heptanal (0,3414 mg•L ⁻¹)	95 a 99

En las Tablas 7 y 8 se muestran los valores mínimos y máximos para los límites de detección y cuantificación de cada aldehído estudiado. Estos valores son el resultado de las cinco curvas de calibración utilizadas en la validación del método analítico. Según la Tabla 7, el acetaldehído con $0,18 \mu\text{g}/\text{m}^3$, es el compuesto que posee el menor valor de límite de detección, mientras que la acroleína tiene el mayor límite de detección, el cual es $3,2 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Con respecto al límite de cuantificación (Tabla 8), el acetaldehído es el compuesto que posee la mínima concentración cuantificable ($0,62 \mu\text{g}/\text{m}^3$), siendo el heptanal el que presenta el mayor límite de cuantificación ($4,7 \mu\text{g}/\text{m}^3$). De acuerdo con los resultados reportados en ambas tablas, los valores de los límites de detección de los aldehídos oscilan entre $0,18 \mu\text{g}/\text{m}^3$ y $3,20 \mu\text{g}/\text{m}^3$, mientras que los límites de cuantificación están entre $0,62 \mu\text{g}/\text{m}^3$ y $4,70 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Estos valores son aceptables si se compara con las metodologías realizadas por otros estudios (Salazar et al, 2016; Guimaraes et al., 2010; Yu et al., 2007; Vega, 2000; Khare et al., 1997).

Tabla 7.

Límites de detección de las cinco curvas de calibración realizadas por el método HPLC con detección ultravioleta utilizado en este estudio.

Aldehído	Límites de detección
	Concentración ($\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$)

	Mínimo	Máximo
Formaldehído	0,22	0,33
Acetaldehído	0,18	0,53
Propanal	0,25	0,47
Butanal	0,35	0,67
Hexanal	0,95	1,3
Heptanal	0,80	1,4
Acroleína	0,25	3,2

Tabla 8.

Límites de cuantificación de las cinco curvas de calibración realizadas por el método de HPLC con detector ultravioleta utilizado en este estudio.

Aldehído	Límites de cuantificación	
	Concentración ($\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$)	
	Mínimo	Máximo
Formaldehído	0,70	1,1
Acetaldehído	0,62	1,8
Propanal	0,83	1,6
Butanal	1,2	2,2
Hexanal	3,2	4,6
Heptanal	2,7	4,7
Acroleína	0,8	3,2

Con respecto al cálculo de coeficiente de correlación de Pearson, se obtuvo un valor de 0,576. En el presente estudio se obtuvo este dato (r) mediante el uso del programa estadístico InfoStat (Di Rienzo et al., 2018), con un valor de $n = 12$ y un valor de confianza $\alpha = 0$ [24]. Hay que indicar que el coeficiente de correlación de Pearson mide la fuerza de la relación lineal entre valores cuantitativos apareados “ x ” y “ y ” en una muestra. El valor de “ r ” siempre debe estar entre 1 y -1. Al comparar el valor “ r ” obtenido por el método con los valores críticos del coeficiente de correlación de Pearson r se concluye que existe una correlación lineal significativa (Triola, 2004).

Conclusiones

El método de análisis para los aldehídos (Formaldehído, acetaldehído, propanal, butanal, hexanal, heptanal y acroleína) mostró buena linealidad, con valores de R^2 igual o mayores a 0,9991 para cada curva de calibración, y valores de porcentajes de desvío relativo menores al 2,25 %, lo cual indica una buena precisión en el análisis.

El porcentaje de recuperación, para cada aldehído osciló entre el 94 % y el 107 %. El propanal mostro el porcentaje de recuperación menor, con valores entre el 94 % y el 97 %. Por su parte los mayores valores pertenecen al hexanal, con recuperaciones entre un 98 % a 107 %. Lo cual implica que el método es reproducible y apto para la cuantificación de los aldehídos en muestras de aire y agua de lluvia.

El acetaldehído fue el compuesto que mostró el menor valor de límite de detección ($0,18 \mu\text{g}/\text{m}^3$), mientras que la acroleína presentó el mayor límite de detección ($3,2 \mu\text{g}/\text{m}^3$). Con respecto al límite de cuantificación, el acetaldehído es el compuesto que posee la mínima

Concentración cuantificable ($0,62 \mu\text{g}/\text{m}^3$), siendo el heptanal el que presentó el mayor límite de cuantificación ($4,7 \mu\text{g}/\text{m}^3$).

Financiamiento

Universidad Nacional, Costa Rica. 0245-13, Determinación de la concentración de aldehídos en aire en un bosque primario (reserva biológica Monteverde) y en una zona urbana (alrededores de la Universidad Nacional)

Agradecimientos

A los autores les gustaría agradecer al Centro Científico Tropical (CCT) y sus colaboradores de la Reserva Biológica Los Cusingos, por permitir el libre acceso a la reserva para la toma de muestras. Además, agradecer a los administradores del Proyecto Las Nubes, Facultad de estudios Ambientales de la Universidad de York, Canadá, por la colaboración y permitir que se tomarán muestras de agua de lluvia en sus instalaciones.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener algún conflicto de interés.

Declaración de la contribución de los autores

El porcentaje total de contribución para la conceptualización, la preparación y la corrección de este artículo fue el siguiente: M.A.A. 20 %, J.P.S.B. 15 %, R.S.F. 15 %, J.C.M.B. 10 %, R.A.S. 15 %, H.B.A. 10 % y J.V.G. 15 %.

Declaración de disponibilidad de los datos

Los datos que respaldan los resultados de este estudio serán puestos a disposición por el autor correspondiente JPSB, previa solicitud razonable.

Referencias

- Barwick, V. J. y Ellison, S. L. R. *Development and Harmonisation of Measurement Uncertainty Principles: Part (d): Protocol for uncertainty evaluation from validation data*, 1^{er} ed; Ediciones VAM: Panamá, 2000; p 21-22.
- Burns, D. T., Danzer, K. y Townshend, A. (2002). Use of the term "recovery" and "apparent recovery" in analytical procedures (IUPAC Recommendations 2002). *Pure and Applied Chemistry*, 74(11), 2201-2205. Doi: <http://dx.doi.org/10.1351/pac200274112201>
- Calderón, B., Venegas, J., Sibaja, J. P., Salazar, J. y Rodríguez, E. (2016). Determinación del contenido de plomo, cromo y mercurio total a nivel traza en matriz de cemento mediante las técnicas analíticas de FAAS, GFAAS y CVAAS: Validación del método de ensayo. *Métodos & Materiales*, 6(1), 1-18. Doi: [10.15517/MYM.V6I1.29700](https://doi.org/10.15517/MYM.V6I1.29700)
- Castillo, B. y González, R. (1996). Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos. *Revista Cubana de Farmacia*, 30(1). Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75151996000100009
- Delgado, B. (2009). *Compuestos carbonílicos en muestras de interés medioambiental y agroalimentario*. (Tesis de Doctorado). Universidad de la Laguna, Tenerife, España.

- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., González, L., Tablada, M. y Robledo C. W. *InfoStat*. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Versión 2018. Recuperado de <http://www.infostat.com.ar>
- EPA. (1999). *Environmental Protection Agency. Compendium of Methods for the Determination of Toxic Organic Compounds in Ambient Air*. U.S.A. Recuperado de <https://www3.epa.gov/ttnamti1/files/ambient/airtox/to-11ar.pdf>
- Ellison, S., Barwick, V. y Duguid, T. *Practical Statistics for the Analytical Scientist: A Bench Guide*. 2nd ed; Ediciones The Royal Society of Chemistry: England, 2009; p 34-35.
- Gallego, A., González, I., Sánchez, B., Fernández, P., Garcinuño, R., Bravo, J., Pradana, J., García, M. y Durand, J. *Contaminación Atmosférica*. 1^{er} ed; Ediciones Universidad Nacional de Educación a Distancia: Madrid, 2012; p 82-83.
- Gasparini, F., Weinert, P., Lima, L., Pezza, L. y Pezza, H. (2008). A simple and green analytical method for the determination of formaldehyde. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 19(8), 1531-1537. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0103-50532008000800012>
- Guash, J. (1983). NTP 138: Pérdida de carga de los soportes de retención. Recuperado de http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/101a200/ntp_138.pdf.
- Guimaraes, C., Custodio, D., Oliveira, R., Varandas, L. and Arbilla, G. (2010). Comparative study of automotive, aircraft and biogenic emissions of aldehydes and aromatic compounds, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 84 (2), pp. 180-184, 2010. doi: 10.1007/s00128-009-9891-5
- Harris, D. *Análisis Químico Cuantitativo*. 3^{er} ed; Ediciones Reverté: Madrid, 2007; p 724.
- Hernández, A. (2001). NTP 609: Agentes biológicos: equipos de muestreo (I). Recuperado de http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/601a700/ntp_609.pdf
- Herrington, J., Zhang, L., Whitaker, D., Sheldon, L. y Zhang, J. (2005). Optimizing dansylhydrazine (DNSH) based method for measuring airborne acrolein and other unsaturated carbonyls. *Journal of Environment Monitoring*, 7(10), 969-976. Doi: <https://doi.org/10.1039/B502063H>
- P. Khare, G. Satsangi, N. Kumar, M. Kumari, and S. Srivastava, "HCHO, HCOOH and CH₃COOH in air and rainwater at a rural tropical site in North Central India". *Atmospheric Environment*, 31(23), 3867-3875, 1997. [https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(97\)00263-X](https://doi.org/10.1016/S1352-2310(97)00263-X).
- Luecken, D., Hutzell, W., Strum, M. y Pouliot, G. (2012). Regional sources of atmospheric formaldehyde and acetaldehyde, and implications for atmospheric modeling. *Atmospheric Environment*, 47, 477-490. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2011.10.005>
- Luo, X., Yazdanpanah, M., Bhooi, N. y Lehotay, D. (1992). Determination of aldehydes and other lipid peroxidation products in biological samples by gas chromatography-mass spectrometry. *Analytical Biochemistry*, 228(2), 294-298. Doi: [10.1006/abio.1995.1353](https://doi.org/10.1006/abio.1995.1353)
- Mielke, L., Pratt, K., Shepson, P., McLuckey, S., Wisthaler, A. y Hansel, A. (2010). Quantitative determination of biogenic volatile organic compounds in the atmosphere using proton-transfer reaction linear ion trap mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 82(19), 7952-7957. Doi: [10.1021/ac1014244](https://doi.org/10.1021/ac1014244)

- Miller, J. y Miller, J. *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. 4^{ta} ed; Ediciones Pearson Education: Madrid, 2002; p 94, 120-127.
- Muños, E. y Grau, M. *Ingeniería Química*. 1^{er} ed; Ediciones Universidad Nacional de Educación a Distancia: Madrid, 2013.
- Peña, R., García, S., Herrero, C., Losada, M., Vásquez, A. y Lucas, T. (2002). Organic acids and aldehydes in rainwater in a northwest region of Spain. *Atmospheric Environment*, 36(34), 5277-5288. Doi: [10.1016/S1352-2310\(02\)00648-9](https://doi.org/10.1016/S1352-2310(02)00648-9)
- Peñuelas, J. y Llusà, J. (2002). Linking photorespiration, monoterpenes and thermotolerance in Quercus. *New Phytologist*, 155(2), 227-228. Doi: <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00457.x>
- Pichersky, E. y Gershenzon, J. (2002). The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. *Current Opinion in Plant Biology*, 5(3), 237-243. Doi: [10.1016/s1369-5266\(02\)00251-0](https://doi.org/10.1016/s1369-5266(02)00251-0)
- Salazar, B. (2016). *Evaluación de la concentración de aldehídos en el aire de la Reserva Biológica Monteverde y del Campus Omar Dengo de la Universidad Nacional, durante la época seca y la lluviosa*. (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional, Costa Rica.
- Seinfeld, J. y Pandis, S. *Atmospheric Chemistry and Physics from Air Pollution to Climate Change*, 2nd ed; Ediciones John Wiley & Sons: New Jersey, 2006; p 2, 256-262.
- Sierra, I., Gómez, S., Pérez, D. y Morante, S. *Análisis Instrumental. Algunas herramientas de enseñanza-aprendizaje adoptadas al Espacio Europeo de Educación Superior*, 1^{er} ed; Ediciones Gesbiblo: Madrid, 2010; p 11-18.
- Ramsey, M. H., & Ellison, S. L. *Eurachem/EUROLAB/ CITAC/Nordtest/AMC Guide: Measurement uncertainty arising from sampling: a guide to methods and approaches*. 2nd ed; Ediciones Eurechem: Turkey, 2007.
- Taylor, J. K. (1983). Validation of analytical methods. *Analytical Chemistry*, 55(6), 600A-608A. Doi: <https://doi.org/10.1021/ac00257a001>
- Triola, M. (2004). *Estadística*, 9^{na} ed; Ediciones Pearson Education: México, 2004; p 498-510, 742.
- Vega, D. (2000). *Aplicación de dos técnicas analíticas de muestreo para la determinación de aldehídos en aire y en agua de lluvia en tres zonas de Costa Rica*. (Tesis de Maestría). Universidad Nacional, Costa Rica.
- Wade, L. *Química Orgánica*, 7^{ma} ed; Ediciones Pearson Education: México, 2012; p 807.
- Y. Yu, S. We, H. Lu, Y. Feng, X. Wang, G. Sheng, and J. Fu, "Characteristics of atmospheric carbonyls and VOCs in Forest Park in South China," *Environmental Monitoring and Assessment*, 137(1-3), 275-285, 2008. Doi: [10.1007/s10661-007-9759-2](https://doi.org/10.1007/s10661-007-9759-2)