



**DESENVOLUPAMENT D'UN MÈTODE ANALÍTIC
PER A LA DETERMINACIÓ DE FORMALDEHID
EN EMULSIONS POLIMÈRIQUES AQUOSES
MITJANÇANT ESPAI DE CAP, CROMATOGRÀFIA
DE GASOS I DETECTORS D'IONITZACIÓ DE
FLAMA I ESPECTROMETRIA DE MASSES**

Màster en Tècniques Cromatogràfiques Aplicades

Juny 2025

ANDREA NAVARRO GARCÍA

TREBALL DE FI DE MÀSTER

Tutora acadèmica: Eva Pocurull Aixalà

Tutora professional: Alicia Olmo Mora

Realitzat en:



*I am not afraid of storms,
for I am learning how to sail my ship.*

Jane Austen

AGRAÏMENTS

A l'Alicia Olmo, per guiar-me en tot aquest procés, ensenyar-me tot el que he après i confiar en mi plenament. Per transmetre'm l'energia, les ganes, l'autoexigència i la perseverança en el treball, i en la vida. Per la paciència i esforç que dedica cada dia en formar-me una miqueta més. Però sobretot, per la vitalitat que transmet, la gran persona que és i la seva forma de veure i viure la vida. Per ser molt més que la responsable del departament i estar present sempre que ho he necessitat.

A la meva tutora, Eva Pocurull, per tot el que m'ha ensenyat durant el grau i el màster, i per guiar-me en aquest darrer camí.

A l'Ane Rebollo, per ser un peu imprescindible quan no tot surt bé, per la seva actitud sempre positiva i l'ambient de bondat i felicitat que genera al seu voltant. A Mehdi Naderi, per ensenyar-me a pensar molt més enllà del que podria imaginar, per aportar tanta felicitat a l'equip i tots els cafès amb teràpia inclosa.

A la resta de les companyes del laboratori, Miriam i Alexia, i la resta de companys de l'empresa, perquè hi ha una granet de cadascun en aquest treball.

A la meva família per estar sempre, recolzar-me incondicionalment i ajudar-me amb tot el possible i més.

Aquest treball també està dedicat a tots els cafès que no em van deixar rendir-me ni parar en cap moment.

Índex

1. RESUM	1
2. INTRODUCCIÓ	2
2.1. CONTEXT	2
2.2. EMPRESA	2
2.3. EMULSIONS POLIMÈRIQUES	4
2.4. FORMALDEHID	6
2.5. LEGISLACIÓ APLICABLE	7
3. OBJECTIUS	8
4. MATERIALS I MÈTODES	9
4.1. MATERIALS I REACTIUS	9
4.2. MÈTODE ANALÍTIC	10
5. RESULTATS I DISCUSSIÓ	12
5.1. DESENVOLUPAMENT I OPTIMITZACIÓ DEL MÈTODE DE FORMALDEHID	12
5.1.1. <i>Optimització de les condicions cromatogràfiques (GC-FID/MS)</i>	13
5.1.2. <i>Optimització de les condicions de reacció de derivatització</i>	16
5.2. ESTUDI PRELIMINAR EN SOLUCIÓ AQUOSA: VALORACIÓ I LIMITACIONS DEL MÈTODE	23
5.3. VALIDACIÓ DEL MÈTODE ANALÍTIC HS-GC-FID/MS EN MATRIU	26
5.3.1. <i>Linealitat</i>	27
5.3.2. <i>Límits de detecció i quantificació</i>	30
5.3.3. <i>Exactitud i precisió</i>	30
5.3.4. <i>Efecte matriu</i>	31
5.3.5. <i>Robustesa</i>	32
5.4. ANÀLISI DE MOSTRES REALS	35
5.5. COMPARACIÓ DE MÈTODES: HPLC-DAD vs HS-GC-FID/MS	35
6. CONCLUSIONS	37
7. BIBLIOGRAFIA	38

1. Resum

Aquest treball recull el desenvolupament i validació d'un mètode analític per a la determinació de formaldehid en emulsions polimèriques en base aquosa, mitjançant derivatització amb etanol, injecció amb espai de cap estàtic (HS) i detecció per cromatografia de gasos amb detector d'ionització de flama (FID) i espectrometria de masses (MS). Davant les limitacions dels mètodes habituals com la cromatografia líquida d'alta resolució acoblada amb detector de díodes en fila (HPLC-DAD) amb reactiu Nash (acetilacetona, especialment pel requeriment de pretractament i la poca representativitat de la matriu), s'ha optat per una metodologia basada en l'anàlisi directa de la fase gasosa (HS), evitant interferències del polímer i millorant la sensibilitat.

S'han optimitzat les condicions de derivatització (temps, temperatura, estequiometria), s'han validat els principals paràmetres del mètode (linealitat, límits de detecció i quantificació, precisió i exactitud), i s'ha estudiat detalladament l'efecte matriu i la robustesa del mètode en diverses famílies d'emulsions. La resposta obtinguda ha estat consistent i reproduïble en concentracions àmplies (2,5 – 430 mg/L), amb una bona correlació lineal ($R^2 > 0,99$) i una millora clara respecte mètodes convencionals.

En anglès:

This study presents the development and validation of an analytical method for determining formaldehyde in water-based polymer emulsions, using derivatization with ethanol, static headspace injection (HS), and detection by gas chromatography using both a flame ionization detector (FID) and a mass spectrometry detector (MS). Due to the limitations of conventional approaches such as high-performance liquid chromatography coupled with a diode-array detector (HPLC-DAD) using Nash reagent (acetylacetone, particularly because of the required sample pretreatment and the poor representativity of the matrix) a methodology based on direct analysis of the gas phase (HS) was selected. This approach avoids polymer interferences and improves sensitivity.

Derivatization conditions (time, temperature, stoichiometry) were optimized, and the main method parameters (linearity, limits of detection and quantification, precision and accuracy) were validated. A detailed evaluation of matrix effect and method robustness was conducted across various emulsion families. The analytical response obtained was consistent and reproducible over a wide concentration range (2.5–430 mg/L), with excellent linear correlation ($R^2 > 0.99$) and a clear improvement over standard methods.

2. Introducció

2.1. Context

El formaldehid és una substància present en molts processos industrials, però que actualment representa una de les grans preocupacions del sector químic a causa de la seva toxicitat i del seu impacte sobre la salut humana¹. En el context de les emulsions polimèriques, aquest compost pot aparèixer com a residu de síntesi o com a subproducte derivat de la reacció d'alguns additius utilitzats durant la polimerització. Davant d'aquesta situació, el control de formaldehid s'ha convertit en una prioritat per part dels fabricants de pintures, adhesius o recobriments, principalment quan l'aplicació final del producte està destinada a estar en contacte directe o indirecte amb persones o aliments.

Fins ara, el laboratori d'I+D d'IQLIT Emulsiones Poliméricas SLU comptava amb un mètode per a la determinació de formaldehid basat en la cromatografia líquida d'alta resolució (HPLC) amb derivatització prèvia mitjançant el reactiu Nash. Aquest mètode requereix realitzar un pretractament de la mostra mitjançant centrifugació, per a separar la fase aquosa de la fase orgànica que conté el polímer. Tanmateix, a causa d'una avaria en la centrífuga utilitzada, aquest mètode ha quedat inoperatiu, fet que ha limitat la capacitat d'anàlisi del formaldehid de forma rutinària. Aquest estudi també neix d'un interès previ derivat de dubtes sobre la fiabilitat d'alguns resultats i de discrepàncies detectades, fet que posa de manifest la necessitat d'un enfocament analític més robust i validat.

Per aquest motiu, sorgeix la necessitat de desenvolupar un nou mètode basat en cromatografia de gasos amb injector d'espai de cap, una alternativa que no requereix la centrifugació de l'emulsió. El repte principal recau sobre la gran complexitat de la matriu: un polímer en solució aquosa que conté compostos orgànics volàtils (residuals que no han reaccionat), a més d'impureses que provenen de la matèria prima o subproductes de la reacció i altres materials com ara tensioactius, espessidors o biocides presents en la mateixa matriu.

2.2. Empresa

El treball s'ha desenvolupat a IQLIT Emulsiones Poliméricas SLU, dins del departament d'Investigació i Desenvolupament (I+D). L'empresa està situada al complex petroquímic de la Canonja i actualment forma part del grup industrial Cristian Lay, una de les corporacions més sòlides a nivell estatal.

IQLIT es dedica a la fabricació d'emulsions polimèriques en base aquosa, amb aplicació en diferents sectors industrials com les pintures, els revestiments, els materials de construcció i els vernissos. L'empresa compta amb més de 45 anys d'experiència en el sector.

Les emulsions produïdes a la planta es classifiquen en dos grans grups de polímers: els homopolímers i els copolímers, dintre dels quals es distingeixen segons els monòmers principals que contenen (emulsions viníliques, acríliques estirenades i acríliques pures).

L'empresa opera amb un ferm compromís amb el medi ambient i aposta pel desenvolupament sostenible. Disposa d'un sistema de gestió integrada i està certificada amb les normes ISO 9001, ISO 14001 i ISO 45001, així com amb la certificació Ecovadis i el càlcul de la petjada de carboni.

El departament d'I+D conté tres laboratoris diferenciats on es duen a terme tasques complementàries que, un cop finalitzat tot el procés, es posen en comú per continuar millorant els productes. A continuació, es descriu breument el paper que desenvolupa cadascun dels tres laboratoris especialitzats en el departament:

- **Laboratori I+D:** equipat amb dos reactors pilot amb sistema de control automàtic de temperatura i flux. És on es desenvolupen noves fórmules d'emulsions polimèriques, s'homologuen noves matèries primeres i s'optimitzen i milloren productes ja existents. Aquestes tasques tenen com a objectiu tant l'expansió del mercat com l'adaptació a les peticions particulars dels clients. També es realitzen les anàlisis bàsiques de les emulsions, com la viscositat, el pH, el contingut en sòlids, el potencial redox i el rebuig al tamís, per tal de dur a terme un control bàsic del producte en les diferents etapes de la producció.
- **Laboratori de caracterització:** en aquest, s'ha desenvolupat l'estudi per la determinació de formaldehid. Disposa dels equips destinats a la caracterització completa de les emulsions, com són els cromatògrafs de gasos i líquids, calorímetre diferencial d'escombratge (DSC), l'instrument per mesurar la temperatura mínima de formació de film (TMFP), espectroscòpia infraroja (IR) i el ZetaSizer. Tots aquests instruments permeten obtenir informació detallada sobre les propietats fisicoquímiques de les emulsions. Especialment, els cromatògrafs són claus per verificar i assegurar el compliment normatiu de les formulacions.

- **Laboratori d'aplicació:** té com a funció principal avaluar les propietats de l'emulsió en les possibles aplicacions finals que pot tenir el producte, així com assessorar clients i resoldre consultes tècniques. Es formulen productes com pintures, vernissos i morters, i es duen a terme assaigs per verificar que les emulsions compleixen amb els requeriments finals esperats: brillantor, resistència al fregament humit, absorció d'aigua, estabilitat, poder cobrent, acceptació del color i comparació amb productes de la competència, entre altres.

2.3. Emulsions polimèriques

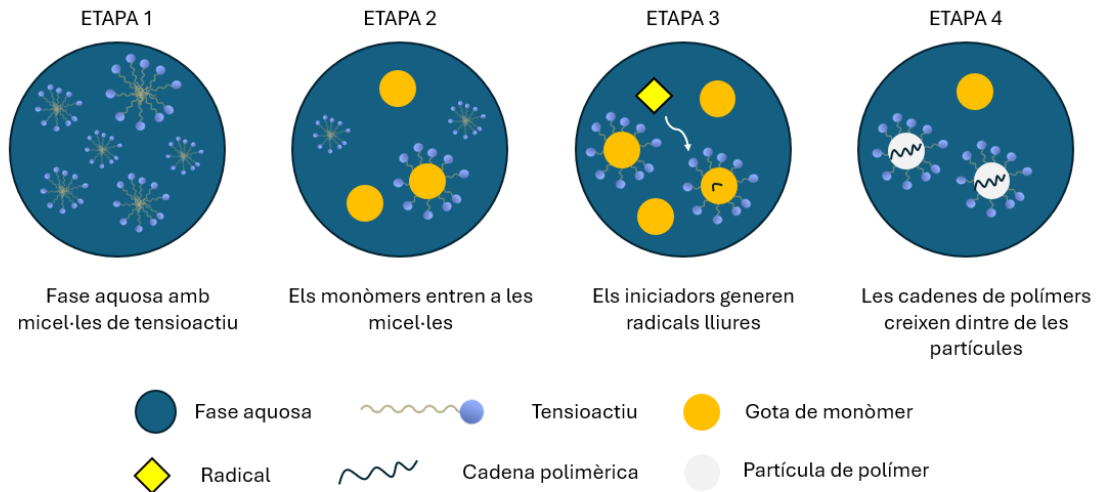
Les emulsions polimèriques són sistemes col·loïdals formats per partícules de polímer dispersades en una fase aquosa. Des del punt de vista estructural, es tracta d'una fase dispersa (les partícules de polímer), una fase aquosa (com a medi de dispersió) i diversos additius encarregats d'estabilitzar el sistema i conferir-li les propietats desitjades².

La seva síntesi es basa en una reacció de polimerització en emulsió, on bàsicament, els monòmers hidrofòbics polimeritzen en presència d'aigua amb ajuda de tensioactius, que estableixen les partícules i mantenen la dispersió, i un sistema d'iniciació adequat. A banda d'aquests components essencials, les emulsions també contenen altres additius com són els conservants o biocides, per evitar contaminacions del producte, i additius funcionals com són els espessidors, els coalescents o els antiespumants, els quals ajusten les propietats físiques i reològiques del producte final.

El procés general per a l'obtenció d'una emulsió polimèrica és mitjançant les següents etapes (veure Il·lustració 1):

1. Preparació de la preemulsió que conté els tensioactius, els monòmers principals i altres monòmers funcionals, més específics en l'aplicació de l'emulsió, tots ells dispersats en aigua.
2. Preparació de la flota dins del reactor, formada per aigua, tensioactius i additius com solucions tampons, estabilitzants o espessidors. Aquesta fase inicial es correspon amb l'etapa 1 de la Il·lustració 1.
3. Inici de reacció amb l'addició d'una petita fracció de preemulsió al reactor i escalfament del sistema (etapa 2).
4. Generació de radicals lliures mitjançant l'addició d'iniciadors a temperatura controlada, que dona lloc a l'inici de la polimerització exotèrmica (etapa 3).

5. Polimerització controlada amb una dosificació continuada de la resta de preemulsió i catalitzadors, mantenint la temperatura de reacció i l'agitació per al creixement de les cadenes dins de les partícules (etapa 4).
6. Finalització de la reacció, amb un pas opcional que és la dosificació d'un sistema redox per acabar de polimeritzar el residual de monòmer que hi resta.



Il·lustració 1. Esquema general d'una reacció de polimerització per la formació d'emulsions polimèriques. En cada rodona blava (fase aquosa) es representen les diferents etapes que tenen lloc durant la polimerització.

Les emulsions polimèriques en base aquosa tenen una importància creixent en la indústria, ja que, en contraposició amb els sistemes en base dissolvent, no alliberen compostos orgànics volàtils en grans quantitats i són més segures tant pel medi ambient com pel consumidor. Així doncs, s'utilitzen àmpliament en la formulació de pintures, adhesius, recobriments tèxtils, cosmètics, productes de neteja industrial o productes per a la construcció³.

A IQLIT es produeix un ampli ventall d'emulsions, comptant amb quasi 30 emulsions diferents destinades a diferents sectors i usos. El catàleg inclou emulsions amb aplicacions com les pintures (interior, exterior, setinades, imprimacions), productes per a construcció (massilles, microciment, morters, membranes elàstiques), adhesius (per a paper, cartró, fusta o plàstic) i recobriments de fusta (vernissos generalment). Aquesta capacitat de formulació a mida depenent de les necessitats d'aplicació, permet ajustar propietats tècniques com la viscositat, la mida i duresa de la partícula, la resistència a l'aigua o l'estabilitat a llarg termini, fet que converteix les emulsions en solucions versàtils.

2.4. Formaldehid

El formaldehid és una substància química àmpliament produïda i utilitzada en diferents sectors industrials com a conservant i desinfectant, gràcies a les seves propietats antimicrobianes. És l'aldehid més simple, altament reactiu, de baix pes molecular i altament soluble en aigua. A més, aquests trets el fan apte com a biocida o conservant en productes aquosos.

La seva presència en les formulacions d'emulsions polimèriques pot ser deguda a diferents motius: com a residu de la síntesi, com a subproducte de degradació o com a conservant afegit intencionadament. Tanmateix, aquesta presència suposa un risc, atès que l'Organització Mundial de la Salut (OMS) l'ha declarat com a substància cancerígena¹.

Per aquesta raó, la seva determinació i quantificació és de gran importància. El seu anàlisi s'ha dut a terme al llarg del temps mitjançant cromatografia de gasos (GC) i cromatografia líquida (HPLC), generalment després d'una derivatització química que millora la seva estabilitat i detectabilitat⁴. El formaldehid per si sol presenta baixa absorció ultraviolada (UV) i baixa resposta als detectors habituals, fet que justifica l'ús de derivats.

Entre els mètodes més emprats, destaca la derivatització amb la 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) analitzada mitjançant HPLC-DAD o per cromatografia de gasos amb detector d'ionització de flama (GC-FID), així com la derivatització amb el reactiu de Nash (acetilacetona) i posterior determinació per HPLC-DAD⁵⁻¹⁰. Aquest darrer mètode és el que s'havia estat utilitzant al laboratori d'I+D d'IQLIT per la determinació de formaldehid en emulsions.

L'interès en aquest estudi no recau únicament en l'avaria produïda en un dels equips emprats. Sorgeix, també, de la necessitat d'adaptar-se a noves estratègies analítiques més eficients, ràpides i menys dependents del pretractament de la mostra, donada la complexitat de la matriu.

2.5. Legislació aplicable

El formaldehid es troba regulat per diverses normatives europees i internacionals a causa de la seva toxicitat i del seu potencial impacte en la salut humana. En primer lloc, el Reglament (CE) 1272/2008 (CLP), que el classifica com a substància carcinògena, tòxica per inhalació i sensibilitzant cutani¹¹. Aquesta classificació implica obligacions específiques en l'etiquetatge, les fitxes de seguretat i la gestió del risc per part dels fabricants.

A més, està directament relacionada amb el Reglament (CE) 1907/2006 (REACH), el qual regula la fabricació, ús i comercialització de substàncies químiques per garantir la protecció de la salut humana i el medi ambient. En aquest, el formaldehid està contingut en la llista de substàncies de molt alta preocupació (de l'anglès *Substances of Very High Concern*, SVHC). Estableix requisits de comunicació en la cadena de subministrament si es supera el 0,1% en pes, amb l'únic objectiu de garantir la protecció del consumidor i del medi ambient¹².

La regulació del formaldehid en emulsions polimèriques es bastant extensa, ja que no aplica directament a aquestes, sinó que va dirigit a la seva aplicació final: pintures, vernissos, adhesius o recobriments.

Un exemple d'aquestes es la regulació ECOLABEL, on s'estableixen els criteris ecològics per la concessió de l'etiqueta ecològica de la UE a les pintures i vernissos d'interior i exterior. L'article 7.a de la Decisió (UE) 2014/312, modificada per la Decisió 2022/1229 de la Comissió estableix que¹³:

“No s'afegiran intencionalment formaldehids lliures al producte final. El producte final se sotmetrà a assaigs per tal de determinar-ne el contingut en formaldehids lliures. (...) Deurà aplicar-se el següent valor límit total: 0,010%.”

D'altra banda, si les emulsions s'empren com a adhesius o recobriments en materials destinats al contacte alimentari, s'apliquen regulacions com la FDA 175.105 o el Reglament (UE) 10/2011. Aquest últim regula els materials plàstics en contacte amb aliments establint un límit de migració específic (SML o LME)¹⁴.

Tal com estableix l'Annex I del Reglament (UE) 10/2011, “*el formaldehid té un límit de migració específic (LME) de 15 mg/kg, essent el LME la quantitat màxima permesa d’una substància donada alliberada des d’un material u objecte en aliments o simulants alimentaris*”. Aquesta dada s’ha de verificar amb els assajos de migració normalitzats pel reglament.

De forma global, el compliment normatiu i les corresponents restriccions dependran del tipus d’aplicació final a la que es destini l’emulsió. Per això és essencial tenir coneixement sobre la presència i concentració de formaldehid a cada formulació. En la pràctica, la concentració màxima coneguda d’una emulsió és de 200 mg/L, i el més habitual està per sota dels 10 ppm, segons les fonts internes. Per consegüent, la recta de calibratge del mètode analític ha de cobrir tot aquest interval de concentracions per garantir una quantificació precisa i conforme als requisits legals.

3. Objectius

A conseqüència de la necessitat d’un nou mètode, l’objectiu general d’aquest treball és desenvolupar un mètode analític per a la determinació i quantificació de formaldehid lliure en emulsions polimèriques en base aquosa mitjançant cromatografia de gasos.

Degut a això, s’avaluaran i optimitzaran totes les condicions del pretractament de mostra, juntament amb la derivatització del formaldehid i l’anàlisi mitjançant un injector d’espai de cap estàtic acoblat a un cromatògraf de gasos amb detector d’ionització de flama i espectrometria de masses (HS-GC-FID/MS).

Per aquest motiu, els objectius específics del treball són els següents:

- ✓ Optimitzar la reacció de derivatització de formaldehid mitjançant etanol catalitzat amb àcid p-toluensulfònic per a la formació de l’acetal de formaldehid (dietoximetà).
- ✓ Estudiar la influència de diferents paràmetres experimentals en la formació del derivat i la seva detecció: tipus de derivatitzant, temps i temperatura d’incubació, etc.
- ✓ Avaluar i validar el mètode proposat, incloent l’eficiència de la derivatització i els paràmetres cromatogràfics: la linealitat, la sensibilitat, la precisió i la recuperació.
- ✓ Comparar els resultats obtinguts mitjançant el mètode desenvolupat amb els resultats obtinguts a través de mètodes convencionals de referència utilitzats en l’empresa: tires reactives i HPLC-DAD.

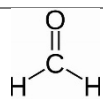
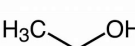
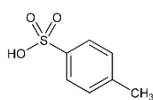
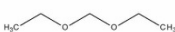
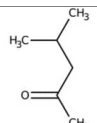
- ✓ Incorporar una nova metodologia viable, reproduïble i transferible per al control rutinari de formaldehid en processos de síntesi de polímers.

4. Materials i mètodes

4.1. Materials i reactius

A continuació, s'esmenten els materials i reactius que s'han utilitzat en el desenvolupament del mètode i es proporciona en la Taula 1 informació útil emprada.

Taula 1. Informació i propietats dels compostos utilitzats.

Compost	Fórmula molecular	Estructura molecular	Pes molecular (g/mol)	Nombre CAS	Punt d'ebullició
Formaldehid	HCHO		30,03	50-00-0	-19 °C
Etanol	C ₂ H ₅ OH		46,07	64-17-5	78 °C
Àcid p-toluensulfònic	C ₇ H ₈ O ₃ S · H ₂ O		190,22	6192-52-5	140 °C
Dietoximetà	C ₅ H ₁₂ O ₂		104,15	462-95-3	88 °C
Metil isobutil cetona	C ₆ H ₁₂ O		100,16	108-10-1	117 °C

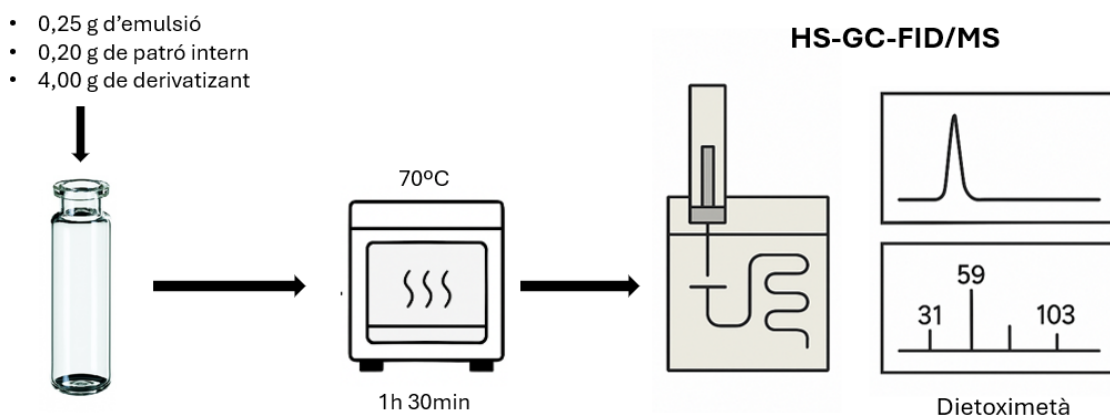
- Solució de formaldehid al 37% (puresa 37% p/p, ACS Reagent, Merck).
- Etanol (puresa 96% v/v, ACS Reagent, J.T.Baker).
- Àcid p-toluensulfònic monohidrat (puresa > 98,5%, ACS Reagent, Sigma Aldrich).
- Dietoximetà (puresa 99,7%, Sigma Aldrich).
- Metil isobutil cetona (MIBK) (puresa > 99%, ACS Reagent, Chem-Lab).
- Aigua MiliQ Ultra Pura.
- Tires reactives de formaldehid MQuant de Supelco (colorimètric).

4.2.Mètode analític

El sistema cromatogràfic utilitzat consta d'un cromatògraf de gasos (Agilent 8860 GC) amb injector d'espai de cap (Agilent 7697A HS) acoblat a dos detectors: el detector d'ionització de flama i l'espectròmetre de masses (Agilent 5977B GC/MSD).

En l'anàlisi de formaldehid per cromatografia de gasos es realitza la derivatització d'aquest per donar l'acetal de formaldehid (dietoximetà). Per a això s'utilitza el derivatitzant, el qual està format per una solució d'etanol i aigua al 50:50 (v/v) amb una concentració d'un 1% d'àcid (àcid p-toluensulfònic, PTSA).

La derivatització es realitza en el propi vial, afegint 0,25 g d'emulsió, 0,20 g de patró intern (metil isobutil cetona, MIBK) i 4,00 g del derivatitzant. Un cop el vial està encapsulat, es deixa durant 1h 30min a l'estufa, a una temperatura de 70 °C. En la Il·lustració 2 es representa un esquema sobre el procediment realitzat en el tractament de la mostra fins l'obtenció del resultat, incloent el pas d'injecció en el cromatògraf de gasos.



Il·lustració 2. Esquema general del procediment experimental per a l'anàlisi de formaldehid mitjançant HS-GC-FID/MS.

Un cop s'ha realitzat la derivatització de la mostra, es procedeix a injectar-la en el cromatògraf de gasos. Totes les condicions del mètode cromatogràfic emprat es detallen en la Taula 2.

Taula 2. Condicions cromatogràfiques per la detecció i quantificació de dietoximetà.

Columna cromatogràfica	VF-1301ms (60 m x 250 µm x 1 µm)
Mode d'injecció	Automàtica, espai de cap estàtic (HS), per diferència de pressió, amb divisió de flux (2:1)
Volum d'injecció	Diferència de pressió entre 15 i 10 psi
Temperatura del vial HS	60 °C
Temps d'equilibri del vial HS	30 minuts
Temperatura del loop	110 °C
Temperatura de línia de transferència	120 °C
Gas portador	Hidrogen
Flux del gas	1 mL/min
Temperatura del forn (GC)	Inicial 40 °C (15 minuts) → rampa 18 °C/min → 250 °C (1 minut)
Temperatura detector FID	250 °C
Temperatura detector MS	Font d'ionització (EI): 250 °C Quadrupol: 150 °C
Mode d'adquisició (ions seleccionats)	Full SCAN: 20 – 400 m/z SIM: 59 m/z (Q), 31 m/z (q1), 103 m/z (q2)
Temps total del cicle cromatogràfic	55 minuts

Com bé es pot observar en la Taula 2, es realitza una injecció utilitzant l'injector automàtic espai de cap estàtic. En aquest, s'utilitza el mode predeterminat d'ompliment de vials anomenat *Flow to Pressure*. El procediment que segueix l'equip és el següent^{15,16}:

1. Es mou el vial al forn del HS i s'escalfa a 60 °C durant 30 minuts.
2. Manté un cabal de 50 mL/min d'heli al vial fins que la pressió dintre d'aquest sigui de 15 psi.
3. Es manté amb aquesta pressió durant 0,25 minuts. Posteriorment, comença l'ompliment del loop amb la mostra fins arribar a una pressió de 10 psi dintre del vial.

Posteriorment, s'injecta en el cromatògraf de gasos on es realitza un gradient de temperatura mostrat en la Taula 2. En aquest s'inclou una etapa després de l'anàlisi (PostRun) durant 10 minuts a 260 °C.

Finalment, hi ha una divisió de flux en la columna, de forma que la mostra arriba simultàniament als detectors FID i MS, on es analitzada seguint les condicions que apareixen en la Taula 2. No obstant això, és possible utilitzar només un dels detectors segons els requeriments de l'anàlisi. En el detector FID s'utilitzen com a gasos l'hidrogen i l'aire per la flama i l'heli com a "Makeup" gas i per pressuritzar el vial en el HS. El detector MS realitza l'adquisició en mode SCAN i SIM de forma simultània, amb l'objectiu d'obtenir tant informació general del perfil de la mostra com tenir una alta sensibilitat pel compost d'interès. S'ha configurat un "solvent delay" de 17 minuts per evitar que el detector s'embruti innecessàriament mentre no apareix el compost d'interès. S'utilitza el mode SIM a 59 m/z per la quantificació del dietoximetà, i es confirma la detecció amb els ions 31 i 103 m/z.

5. Resultats i discussió

5.1. Desenvolupament i optimització del mètode de formaldehid

El desenvolupament del mètode s'inicia amb la família de les emulsions acríliques estirenades, ja que, segons experiència prèvia (evidenciat en estudis interns previs per a la detecció de compostos orgànics volàtils o VOC), s'ha observat que les corbes de calibratge poden veure's afectades per la naturalesa dels monòmers principals presents en la formulació. Aquesta hipòtesi es revisarà posteriorment, un cop el mètode estigui desenvolupat i optimitzat, per determinar si cal establir metodologies específiques per a les altres famílies d'emulsions o si un únic mètode pot ser aplicable de manera transversal. S'ha escollit començar amb la família de les estirenades pel seu alt volum de venda i perquè es disposa d'una emulsió sobre la qual es té constància que no conté formaldehid.

A continuació, es resumeix el procediment descrit a la bibliografia en el qual es basa el mètode emprat⁹:

- **Preparació de la mostra:** 0,25 g del excipient es barregen amb 4 mL de la solució a l'1% (p/p) d'àcid p-toluensulfònic en etanol, dins d'un vial de Head Space de 20 mL.

- **Condicions del Head Space:** incubació a 70 °C durant 15 o 25 minuts (segons la mostra), amb la xeringa a 75 °C i agitació de 500 rpm. S'injecten 800 µL a una velocitat de càrrega de xeringa de 100 µL/s i s'injecten al cromatògraf a 1000 µL/s.
- **Condicions instrumentals del GC:** temperatura de l'injector a 170 °C amb un *split ratio* d'1:25. El programa del forn comença a 35 °C durant 5 minuts i augmenta fins a 220 °C amb una rampa de 40 °C/min, mantenint-se durant 1 minut. El flux d'heli és de 0,9 mL/min. El detector FID opera a 280 °C per a la quantificació, i el detector MS treballa a 230 °C en mode full scan per a la identificació.

L'optimització del mètode s'organitza en dos blocs: d'una banda, s'analitzaran els factors que poden afectar a la reacció de derivatització (estequiometria, temperatura, temps de reacció i compatibilitat amb el derivatitzant) i de l'altra, es revisaran les condicions cromatogràfiques (condicions d'incubació en el HS i els paràmetres del forn de gasos).

5.1.1. Optimització de les condicions cromatogràfiques (GC-FID/MS)

Es comença per optimitzar les condicions cromatogràfiques per garantir la separació del component d'interès respecte la resta de components volàtils que conté l'emulsió, que poden tenir punts d'ebullició entre 20 °C i 230 °C. El dietoximetà, derivat del formaldehid, té un punt d'ebullició de 88 °C i es troba, per tant, en una zona intermèdia on pot solapar-se amb altres compostos.

En conseqüència, no s'aplica directament el mètode proposat per la bibliografia, ja que, segons experiència prèvia en anàlisi de VOC, es requereix mantenir una temperatura baixa durant almenys 15 minuts per aconseguir una separació efectiva.

Es realitza l'optimització de la separació i detecció mitjançant la reacció de derivatització de formaldehid, dietoximetà, en emulsió seguint el procediment establert en el mètode bibliogràfic. Es proven diversos programes de temperatura (Taula 3), amb l'objectiu de separar una impuresa que apareix just abans del pic del compost d'interès.

Taula 3. Gradients de temperatura utilitzats en l'optimització del mètode cromatogràfic. En lila els canvis realitzats respecte al gradient inicial (gradient 1).

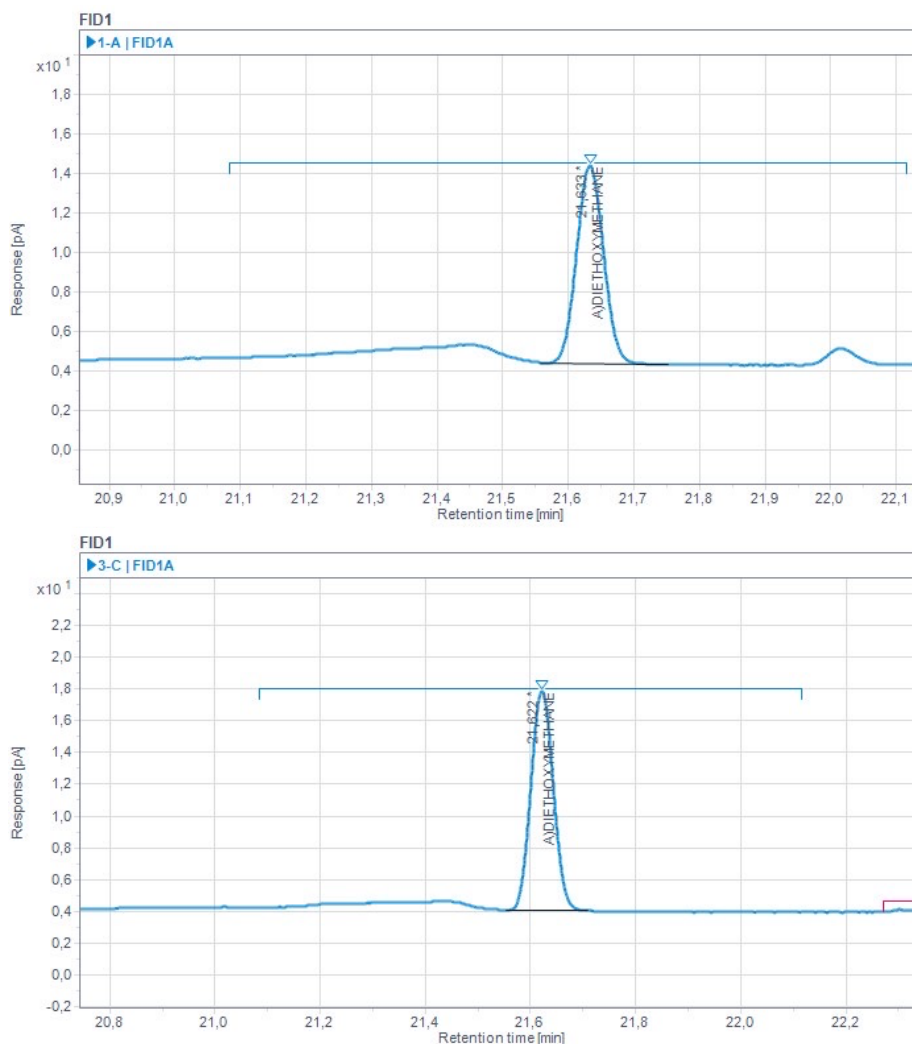
Gradient	1	2	3	4	5	2 B
T 1 (°C)	40	40	40	40	40	40
Hold 1 (min)	15	15	15	15	25	15
Velocitat (°C/min)	40	20	10	30	40	18
T 2 (°C/min)	250	250	250	250	250	250
Hold 2 (min)	5	5	1	10	5	1
Temps d'anàlisi (min)	25	26	36	26,7	35	27,7
t_R impuresa (min)	19,82	21,22	23,07	20,33	28,63	21,30
t_R dietoximetà (min)	19,87	21,40	23,58	20,43	28,68	21,54
Separació impuresa de dietoximetà	NO	SI	SI	NO	NO	SI

Tal com es veu a la Taula 3, els diferents gradients es basen en modificacions de la rampa entre 40 °C i 250 °C. Es detecta una impuresa que s'intenta separar. Aquesta està present quan no hi ha formaldehid i a més presenta un espectre de masses ambigu. També es pot observar aquesta impuresa quan es realitza la reacció de derivatització en medi aquós. En canvi, quan s'injecta únicament l'emulsió, sense derivatitzant ni formaldehid, aquest pic no apareix. Es sospita que prové de la degradació del àcid p-toluensulfònic o del dietoximetà, o bé d'una reacció secundària entre el derivatitzant i el formaldehid.

S'observa que una disminució de la rampa (10 – 20 °C/min) i un lleuger augment del temps d'anàlisi, es pot separar la impuresa. A partir del gradient 1, s'elaboren els gradients 2, 3, 4 i 5 amb modificacions progressives. En el cas del gradient 5, no es canvia la rampa, sinó que es manté la temperatura inicial durant 25 minuts per observar si això afavoreix la separació. El gradient 2B sorgeix com a proposta intermèdia entre el gradient 2 i 3, buscant una separació efectiva amb un temps raonable.

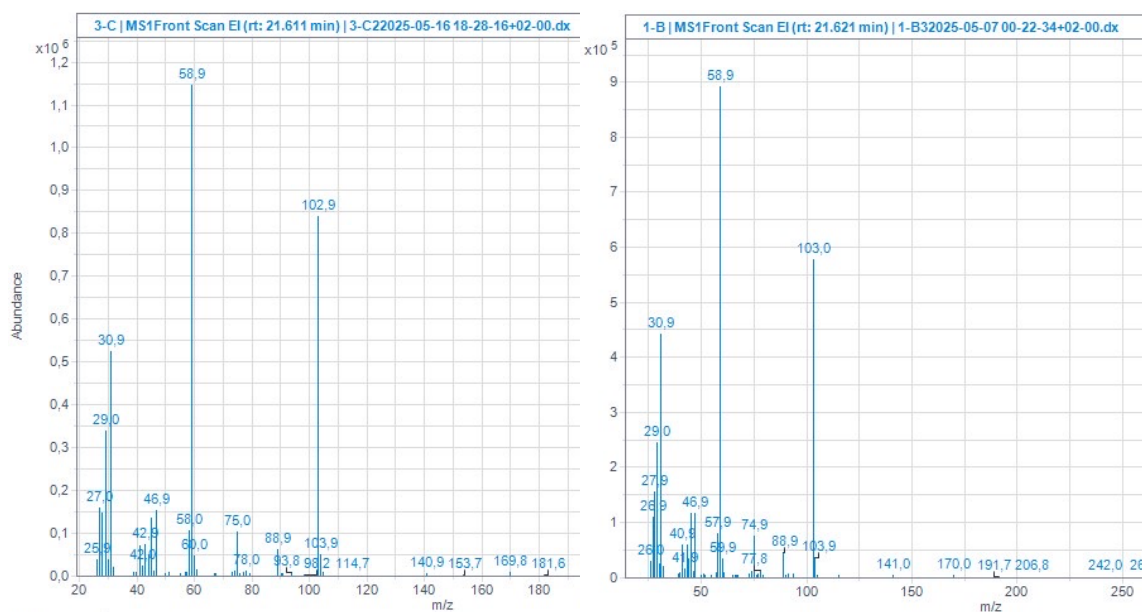
Finalment, es selecciona aquest últim per a l'anàlisi, ja que permet separar correctament la impuresa i obtenir una quantificació fiable tant amb FID com amb MS.

Per confirmar la identificació del derivat, es compara el temps de retenció del pic de l'emulsió amb el dietoximetà estàndard afegit ($t_R = 21,6$ min), com es mostra a la Il·lustració 3.



Il·lustració 3. Cromatogrames del dietoximetà: mostra derivatitzada (cromatograma superior) i estàndard (cromatograma inferior).

A més, es confirma que és aquest pic i no alguna altra impuresa pròpia de l'emulsió amb ajuda del detector d'espectrometria de masses, que treballa en full SCAN i proporciona l'espectre dels dos pics, els quals es comparen amb la biblioteca NIST, amb un percentatge superior al 80%. En la Il·lustració 4 es mostren els espectres obtinguts amb l'espectròmetre de masses Agilent 5977B GC/MSD.

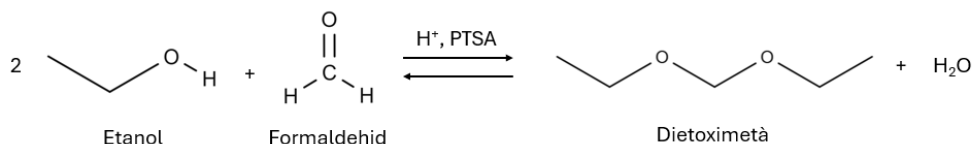


Il·lustració 4. Espectres de masses del dietoximetà, a l'esquerra, el reactiu estàndard; a la dreta, el derivat obtingut per la reacció.

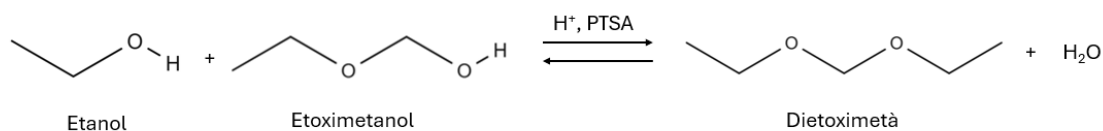
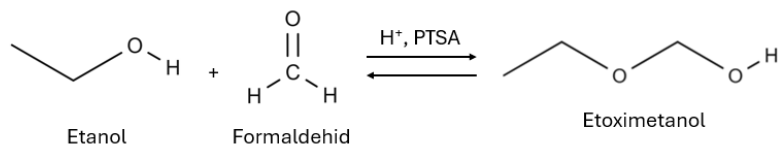
Per la quantificació d'aquest compost, s'utilitzarà el detector FID. No obstant això, s'utilitzarà el detector MS en mode SIM ja que proporciona una major sensibilitat i selectivitat. S'escull l'ió 59 m/z ja que és el que té la major resposta en el dietoximetà i no presenta interferències prop en la matriu analitzada. D'aquesta forma és l'ió que proporcionarà major sensibilitat i selectivitat de l'analit.

5.1.2. Optimització de les condicions de reacció de derivatització

Un cop establerta una separació adequada i confirmada la detecció del derivat d'interès, s'aborda l'optimització de la reacció de derivatització basada en la formació d'acetals. Aquest tipus de reacció té lloc quan un aldehyd o una cetona reacciona amb un alcohol en presència d'un catalitzador àcid. El mecanisme implica dues etapes: en la primera es forma l'hemiacetal, que posteriorment reacciona amb una segona molècula d'alcohol per donar lloc a l'acetal (veure Il·lustració 5).



Mecanisme:



Il·lustració 5. Reacció de derivatització de formaldehid per a l'obtenció del seu acetal, el dietoximetà. Es mostra el mecanisme general, amb una primera etapa de formació de l'hemiacetal (etoximetanol).

La reacció global presenta una estequiometria de 2 mols d'etanol amb 1 mol de formaldehid, per a donar 1 mol de dietoximetà i 1 mol d'aigua com a subproducte.

En aquesta reacció entren en joc diversos factors a tenir en compte, els quals es descriuen a continuació amb les corresponents proves realitzades i els resultats més satisfactoris obtinguts per a la matriu analitzada.

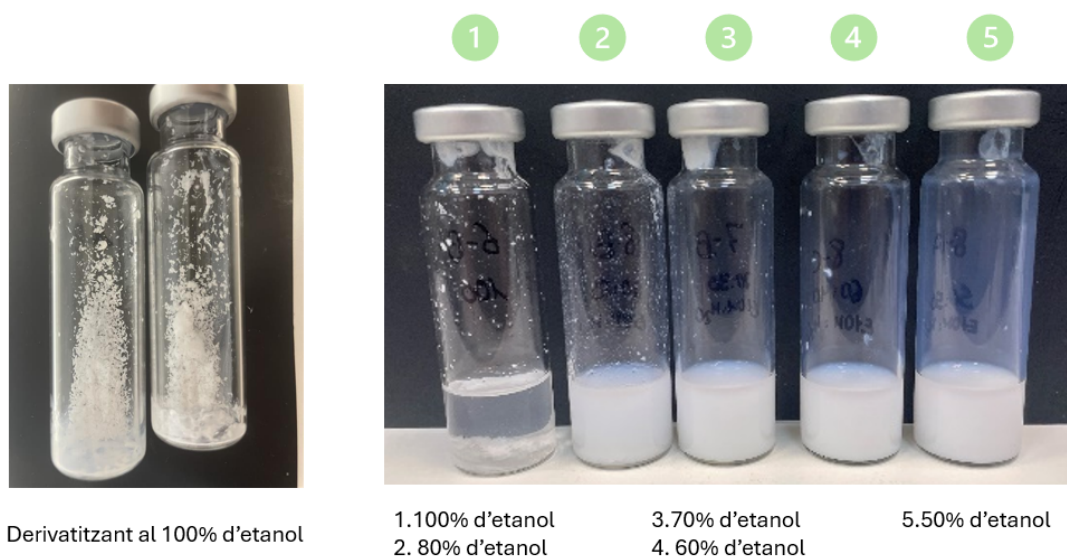
- **Compatibilitat de l'emulsió amb el derivatitzant**

Com ja s'ha esmentat anteriorment, les emulsions polimèriques que es fabriquen a IQLIT són en base aquosa, on el polímer es troba dispers en aigua estabilitzat amb ajuda de tensioactius. La concentració i naturalesa d'aquests agents estabilitzants estan dissenyades per mantenir un equilibri entre la fase aquosa i la fase orgànica (components hidrofòbics). Si aquest equilibri es veu alterat (per exemple, amb un excés de component orgànic), pot provocar la desestabilització del sistema col·loidal i la precipitació del polímer.

Aquest fenomen es va observar quan es va afegir 4,0 g d'etanol amb un 1% de PTSA a 0,25 g d'emulsió (veure Il·lustració 6). Aquesta precipitació pot arribar a donar lloc a la pèrdua de formaldehid retingut dintre de la partícula o la seva generació provinent del trencament de l'estructura, provocant que la mostra deixi de ser representativa. A més a més, al no obtenir una derivatització homogènia es pot arribar a subestimar la quantitat real de formaldehid, ja que part d'aquest podria quedar atrapat a l'interior de la fase precipitada sense reaccionar.

Altres conseqüències poden ser falta de reproductibilitat per l'anàlisi HS-GC, degut a la pèrdua d'equilibri entre la fase líquida i la fase gasosa, i a la influència de la fase precipitada, podent donar valors erronis i comprometre la precisió i exactitud dels resultats.

En conseqüència, es varen fer dilucions del derivatitzant mantenint l'1% de PTSA: 100%, 80%, 70%, 60% i 50% d'etanol amb aigua.



Derivatitzant al 100% d'etanol

1. 100% d'etanol
2. 80% d'etanol

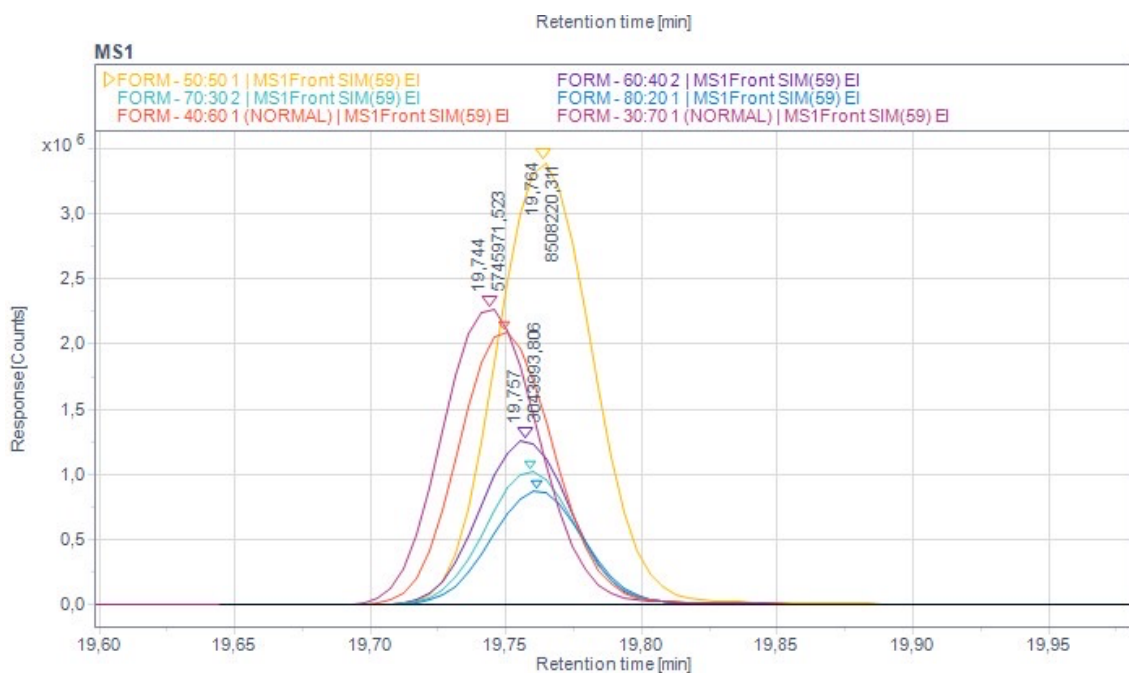
3. 70% d'etanol
4. 60% d'etanol

5. 50% d'etanol

Il·lustració 6. Proves de compatibilitat del derivatitzant amb l'emulsió. Es mostren les dilucions de l'etanol amb aigua (100%, 80%, 70%, 60% i 50%).

Com es pot observar en la Il·lustració 6, amb el 100% d'etanol, l'emulsió precipita completament. A mesura que es redueix el contingut d'etanol mitjançant dilució amb aigua, la mostra millora la seva solubilitat. En els vials corresponents al 80%, 70% i 60%, es pot observar precipitat en les parets del vial, malgrat que gran part de l'emulsió es dilueix. En el vial amb el 50%, l'emulsió es dilueix completament, sent la condició òptima de compatibilitat.

Per completar l'estudi, aquests vials s'injecten al cromatògraf de gasos (Il·lustració 7) per veure la resposta que s'obté amb el mètode cromatogràfic no optimitzat (únicament es deixa durant 40 minuts en el HS a 60 °C). Per garantir que les mostres siguin comparables, s'afegeix una concentració coneguda de formaldehid a totes les mostres, excepte el vial al 100% d'etanol ja que tota l'emulsió precipita i no és un resultat òptim.



Il·lustració 7. Comparativa de la resposta cromatogràfica segons la dilució del derivatitzant (etanol) en el detector MS (SIM, 59 m/z). En ordre decreixent de quantitat d'etanol, 80%, 70%, 60%, 50%, 40% i 30%, corresponent als colors blau fosc, blau clar, lila, groc, taronja i rosa.

Com s'evidencia en la Il·lustració 7, a mesura que disminueix la quantitat d'etanol i l'emulsió presenta una millor solubilitat, la resposta del dietoximetà augmenta en ambdós detectors. És per això que també es continua diluint fins al 40 i 30% d'etanol. En aquests casos la resposta decreix, suggerint que una dilució excessiva també pot ser desfavorable per a l'eficiència de la derivatització, ja que l'aigua pot arribar a revertir la reacció.

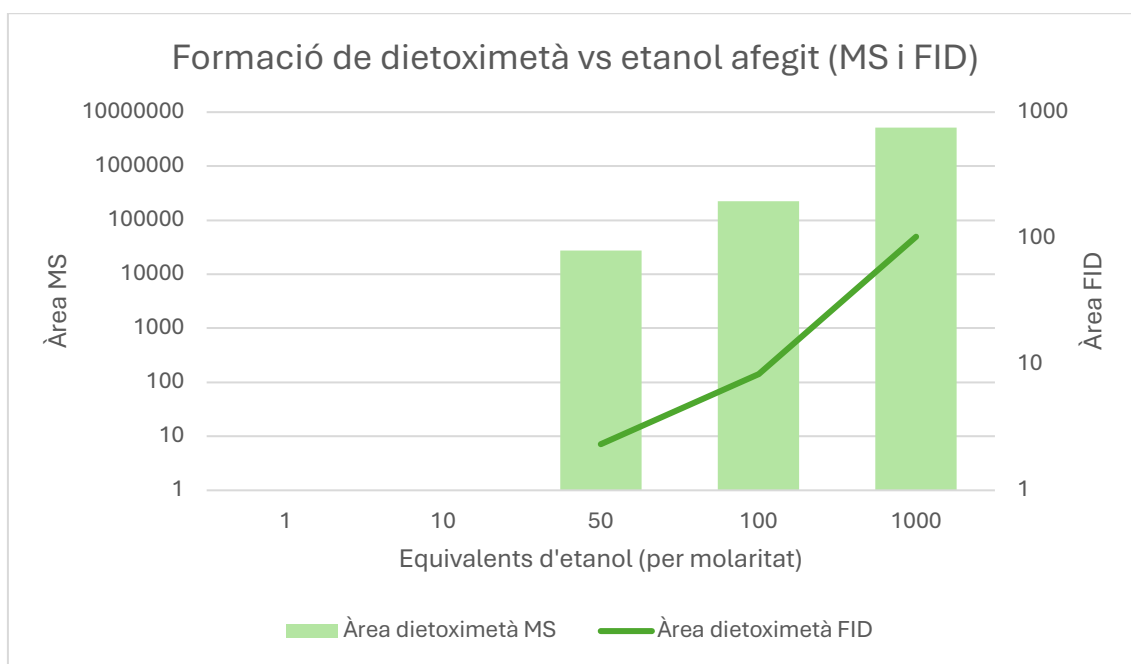
Aquests resultats confirmen que és essencial que l'emulsió estigui correctament dissolta per una derivatització màxima de formaldehid. La màxima conversió en la reacció de derivatització s'obté amb una proporció 50:50 (v/v) d'aigua:etanol, corresponent al color groc en la Il·lustració 7.

- **Estequiometria de reacció**

En la reacció de derivatització per a la detecció de formaldehid, aquest reacciona amb etanol en presència d'un catalitzador àcid per formar l'acetal dietoximetà i aigua. Teòricament, la reacció segueix una relació molar 1:2 (formaldehid:etanol) per assolir una conversió completa. Malgrat això, diversos factors poden afectar l'eficiència d'aquesta conversió, especialment si el formaldehid es troba integrat dins de la matriu de l'emulsió polimèrica.

Per aquest motiu, es va considerar rellevant avaluar l'efecte de l'excés d'etanol sobre l'eficiència de la derivatització i la resposta analítica obtinguda. Es va dissenyar un assaig amb diverses proporcions d'etanol respecte la quantitat molar teòrica: 1x, 10x, 50x 100x i 1000x equivalents (eq), com es mostra en la Il·lustració 8.

L'assaig amb diferents quantitats d'etanol permet identificar les condicions òptimes per a la matriu real, garantint l'eficiència de la derivatització i maximitzant la resposta analítica, així com la fiabilitat i robustesa del mètode.



Il·lustració 8. Resposta cromatogràfica del dietoximetà (FID/MS) en funció de l'estequiometria d'etanol afegida. Condicions de HS: 60 °C durant 40 minuts, sense reacció prèvia en estufa.

A partir d'aquest anàlisi, s'observa que la resposta assoleix un màxim al 1000x eq d'etanol, que correspondria aproximadament amb un 40% d'etanol en dissolució. Aquest resultat indica que un excés d'etanol afavoreix el desplaçament de l'equilibri cap a la formació de l'acetal, millorant la conversió i facilitant la reacció de formaldehid que es trobi dintre de la partícula. Això evita una reacció incompleta i, per tant, una subestimació del formaldehid. En canvi, si la concentració no arriba com a mínim a 50x eq, no es detecta cap pic en els detectors, i per tant, si la reacció té lloc, la conversió és mínima o ineficient en aquestes condicions.

- **Temps i temperatura d'incubació en l'injector d'espai de cap (HS) i en estufa**

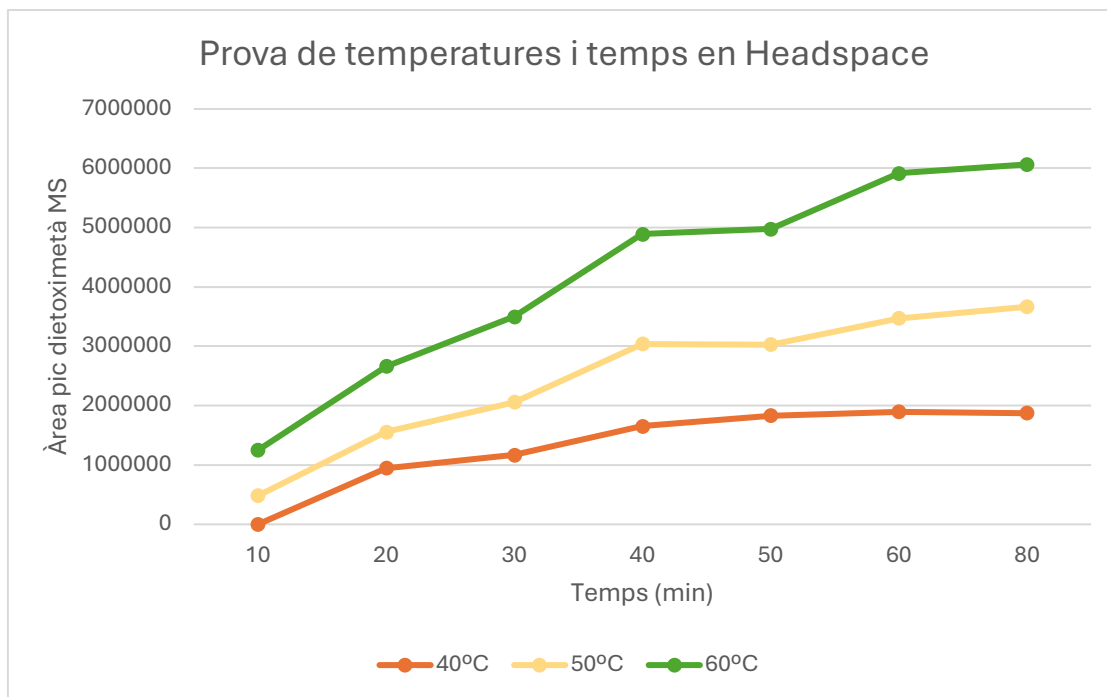
Un cop optimitzada la reacció de derivatització, es va procedir a estudiar les condicions d'extracció i injecció del derivat cap al sistema de cromatografia de gasos (GC), posant especial atenció al temps i a la temperatura d'incubació. L'objectiu és determinar les condicions òptimes per obtenir el màxim senyal possible sense allargar excessivament el temps d'anàlisi.

L'injector d'espai de cap (HS) té un paper fonamental, ja que permet treballar amb matrius que no poden ser injectades directament al sistema. Aquest sistema actua com a mètode d'extracció ràpida i amb una manipulació mínima per part del tècnic, reduint el risc d'errors i el temps de preparació.

Tot i això, cal tenir present que a l'empresa només es disposa d'un cromatògraf amb un únic injector HS amb capacitat per a 12 vials. Per tant, un temps d'anàlisi massa llarg podria comprometre l'eficiència analítica i saturar l'equip.

En les primeres proves, seguint les condicions descrites a la bibliografia (directament al HS, a 60 °C durant 40 minuts), es va observar que una manca de reproductibilitat i linealitat en la conversió de la derivatització en funció de la concentració de formaldehid. Especialment, en mostres amb continguts baixos, l'excés relatiu d'etanol afavoria una resposta no lineal, equivalent a la de mostres amb concentracions més altes, suggerint un efecte no controlat sobre l'equilibri de reacció de derivatització.

Per aquest motiu, es realitza un estudi específic d'escalfament només a l'interior del forn del HS, variant la temperatura (40, 50 i 60 °C) i el temps fins a 80 minuts (II·lustració 9).



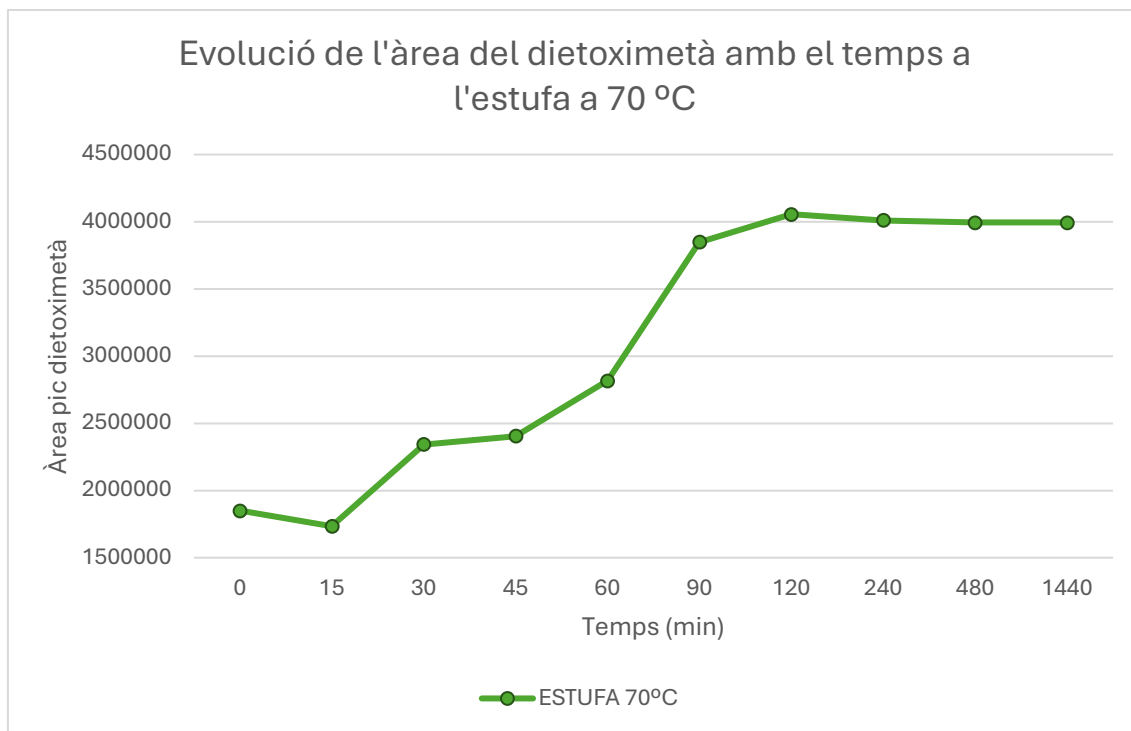
Il·lustració 9. Proves de temperatura i temps en l'injector d'espai de cap (40, 50 i 60 °C). Àrea registrada en el detector d'espectrometria de masses.

Els resultats van mostrar que, l'àrea del pic del dietoximetà (n=2) augmentava progressivament amb la temperatura i el temps, sense arribar a establir-se, fet que indica una derivatització incompleta en aquestes condicions.

Així doncs, es va optar per realitzar la derivatització prèviament en una estufa a 70 °C, deixant lliure l'injector per a la fase d'extracció i injecció i garantint la màxima conversió del formaldehid. També ajuda a unificar les condicions, assegurant que tots els vials segueixen temps i temperatures controlades.

Un altra raó per evitar la derivatització dins del HS és la proximitat de la temperatura de reacció al punt d'ebullició de l'etanol (78 °C, medi de reacció). Per precaució i per evitar sobrepressió al vial, es manté un marge de seguretat de 20 °C, de manera que la derivatització es realitza a 70 °C a l'estufa i mantenint la temperatura d'extracció a 60 °C.

Per determinar el temps òptim d'incubació a aquesta temperatura, es van escalfar vials amb la mateixa concentració durant intervals entre 15 minuts i 24 hores (Il·lustració 10).



Il·lustració 10. Evolució de l'àrea del dietoximetà amb diferents temps d'incubació a 70 °C. Condicions posteriors d'injecció: HS a 60 °C durant 30 minuts.

Els resultats mostren que l'àrea de dietoximetà augmenta fins als 90 minuts, estabilitzant-se posteriorment. Per tant, s'estableix aquest temps com a òptim per assegurar una derivatització completa i una conversió constant, tot i que no sigui necessàriament el màxim.

5.2. Estudi preliminar en solució aquosa: valoració i limitacions del mètode

Després d'optimitzar totes les condicions analítiques per maximitzar la resposta i la conversió del formaldehid en dietoximetà, es realitza una prova de calibratge en solució aquosa. L'objectiu es validar el funcionament del mètode en condicions controlades, minimitzant les variables que poden intervenir en l'anàlisi pròpies de la matriu.

Amb aquest calibratge es pot estudiar la linealitat i sensibilitat del mètode junt amb el comportament del derivat del formaldehid sense la influència d'interferents. En aquestes condicions, es minimitzen les variables que poden afectar el rendiment analític (comprovació de què la matriu no és un inconvenient en la quantificació, paper de l'emulsió en la derivatització, i corroborar si el mètode és lineal), permetent verificar que el sistema funciona correctament.

Cal destacar que en les rectes de calibratge amb solució aquosa no s'avaluen tots els paràmetres per fer una validació completa, sinó que només es realitza una avaluació preliminar del interval de linealitat, el coeficient de correlació que presenta la recta i els límits de detecció i quantificació observats. Aquesta recta únicament es farà servir com a referència per validar posteriorment el comportament del mètode en matriu.

És important remarcar que aquest mètode en medi aquós no està destinat a quantificar mostres reals ja que no reflecteix les possibles interferències presents a l'emulsió. Tanmateix, permet establir un punt de partida per comparar l'efecte matriu posteriorment.

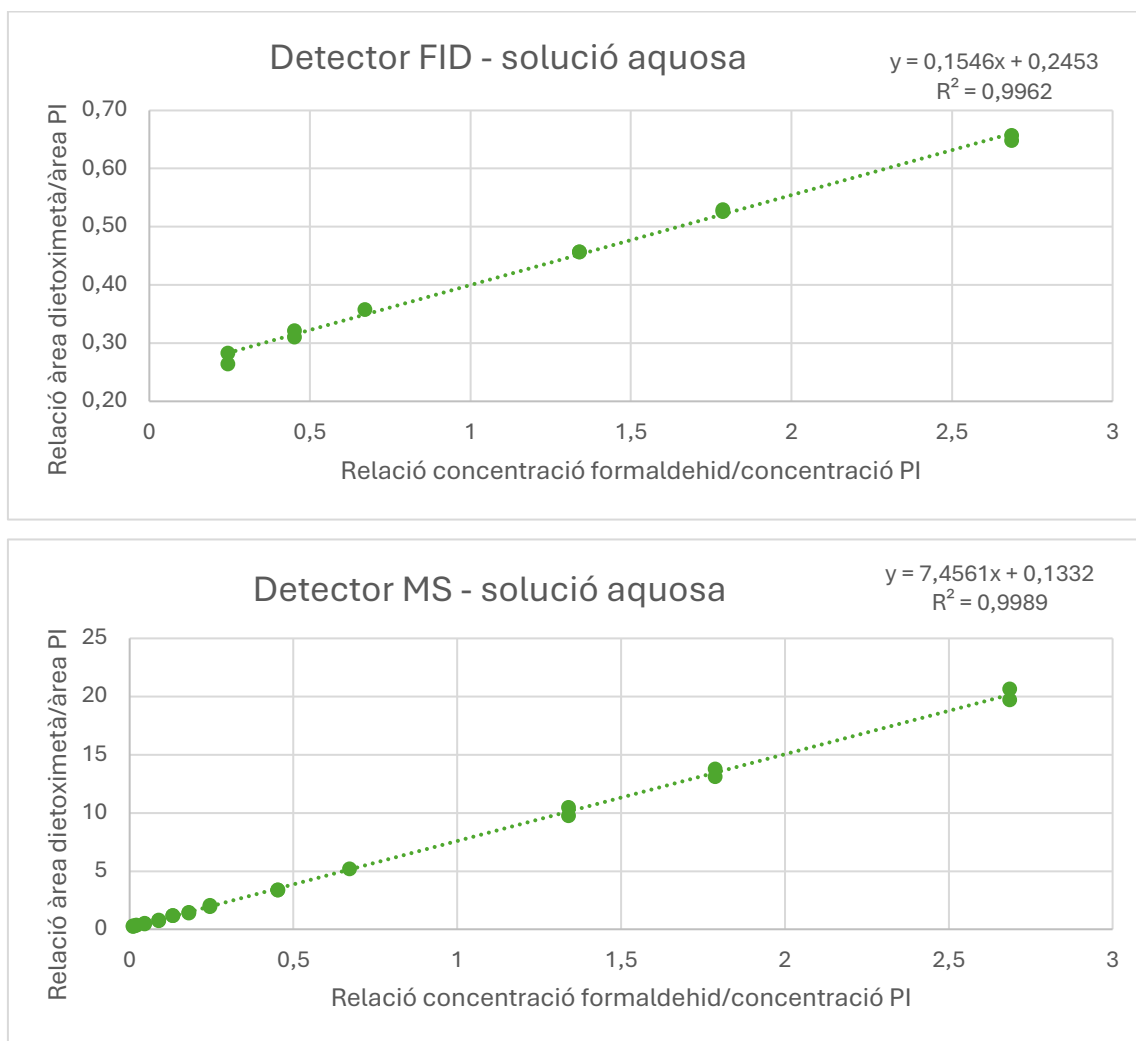
Per a la construcció de la recta de calibratge, es van preparar solucions estàndard per dilucions d'una solució estàndard de formaldehid al 37% (p/p) en aigua ultrapura (solució mare de 2000 ppm). Els nivells de concentració preparats són de 150, 100, 80, 40, 25, 15, 10, 7,5, 5, 2,5, 1 i 0,5 mg/L. Tots aquests es preparen a partir del patró 1. La Taula 4 recull el detall de la preparació dels patrons i les seves concentracions finals en el vial d'anàlisi.

Taula 4. Preparació de patrons en solució aquosa per la recta de calibratge (de 150 mg/L fins a 0,5 mg/L en solució).

Patró	Pes solució mare (2000 mg/L, g)	Pes del patró 1 (150 mg/L, g)	Pes aigua (g)	Concentració en solució (mg/L)	Concentració en el vial d'injecció (mg/L)
1	1,40		17,00	150,0	9,00
2		4,00	2,00	100,0	6,00
3		2,00	2,00	80,0	4,50
4		2,00	6,00	40,0	2,20
5		1,00	5,00	25,0	1,50
6		1,00	10,00	15,0	1,00
7		1,00	14,00	10,0	0,60
8		0,50	10,00	7,5	0,40
9		0,50	15,00	5,0	0,30
10		0,20	12,00	2,5	0,15
11		0,10	15,00	1,0	0,10
12		0,05	15,00	0,5	0,05

Prèviament a la preparació dels patrons de calibratge, es prepara la solució de patró intern (PI) mitjançant la dilució de metilisobutilcetona (MIBK) pura en aigua ultrapura, en una proporció de 0,01 g de MIBK en 10,0 g d'aigua. Paral·lelament es prepara la solució de derivatitzant dissolent 8,34 g d'àcid p-toluensulfònic (PTSA) en 1L de solució d'etanol/aigua 50:50 (v/v).

A continuació, es va procedir a la preparació dels vials d'anàlisi, afegint-se a cada vial de 20 mL (Headspace, HS): aproximadament 0,25g de solució patró, 0,20g de PI i 4,00 g de derivatitzant. Els vials es tanquen hermèticament i es deixen a l'estufa a 70 °C durant 90 minuts per dur a terme la reacció i assegurar la conversió completa del formaldehid en dietoximetà. Tots les solucions i patrons es deixen agitant durant 15 minuts en un agitador de vials per assegurar l'homogeneïtzació. Posteriorment s'injecten al cromatògraf seguint les condicions descrites en l'apartat 4.2. per la construcció de les rectes de calibratge (Il·lustració 11).



Il·lustració 11. Rectes de calibratge en solució aquosa pels detectors FID i MS.

Els resultats obtinguts en solució aquosa mostren una bona linealitat amb el MS, amb un coeficient de correlació de $R^2 = 0,9989$. No obstant això, no són totalment satisfactoris amb el detector FID degut a la presència d'una impuresa que coelueix just abans del pic de dietoximetà. Aquesta impuresa no es separa adequadament en les condicions cromatogràfiques emprades en solució aquosa, fet que limita poder separar i integrar de forma correcta en concentracions molt baixes. Malgrat això, a altes concentracions la linealitat també és adequada ($R^2 = 0,9962$).

Els valors dels límits de detecció i quantificació del mètode (Taula 5), es determinen a partir del senyal de soroll i tenint en compte la presència d'interferències en el blanc i les solucions estàndard. El LOD és equivalent a tres vegades la S/N i el LOQ correspon a 10 vegades la S/N.

Taula 5. Límits de quantificació i detecció del mètode en solució aquosa.

DETECTOR	LOD (mg/L de formaldehid)	LOQ (mg/L de formaldehid)
FID	5	14
MS	0,001	0,5

En el cas del FID els límits són significativament més alts degut a la presència de la impuresa, que dificulta la identificació i quantificació del pic a concentracions menors de 10 mg/L. En canvi, el MS, gràcies a la seva elevada sensibilitat, permet establir límits més baixos, tot i que la linealitat es perd per sota de 0,5 mg/L de concentració de formaldehid.

5.3. Validació del mètode analític HS-GC-FID/MS en matriu

Després de validar i optimitzar el mètode en medi aquós, s'avalua el seu comportament en matriu real d'emulsió polimèrica. Al comparar ambdós medis es pot veure l'efecte de la matriu que hi ha present i fins a quin punt la matriu pot afectar la derivatització i l'extracció o la injecció de l'analit.

Per preservar l'efecte matriu en tots els patrons, aquests es preparen directament a partir d'una emulsió lliure de formaldehid. A diferència del cas en solució aquosa, no es realitza una solució mare de formaldehid diluïda, sinó que el formaldehid s'afegeix directament en el primer patró, i a partir d'aquest es fan dilucions successives per obtenir els nivells restants. Això permet mantenir la presència realista de la matriu en cada dilució.

La dificultat per fer pesades precises amb l'emulsió obliga a evitar pesades molt baixes (per exemple, 0,05g), de manera que totes les dilucions es realitzen per pes, partint sempre del patró anterior. Es segueixen les dilucions descrites en la Taula 6.

Taula 6. Preparació de patrons de formaldehid en emulsió (400 mg/L fins a 0,5 mg/L en emulsió).

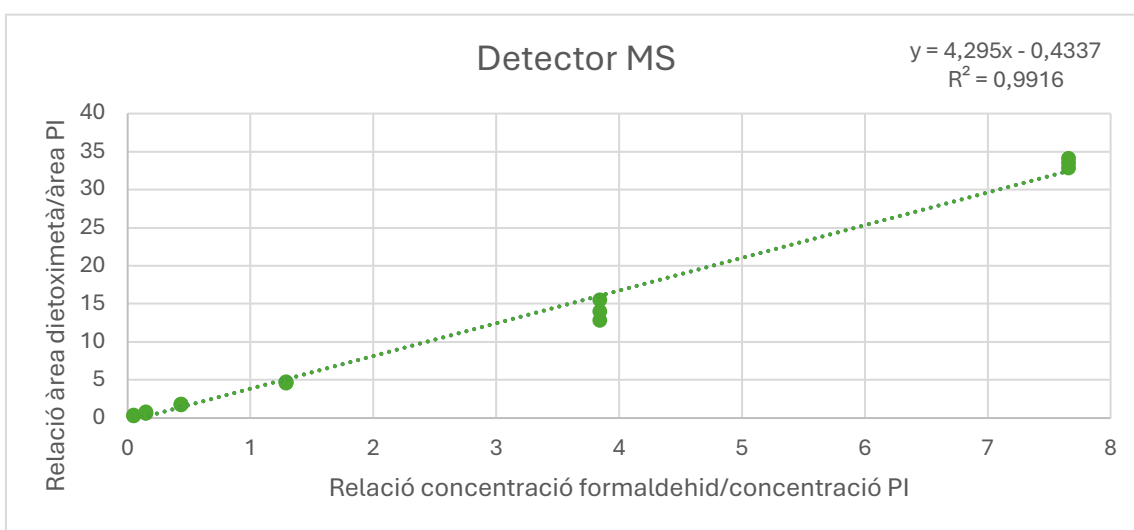
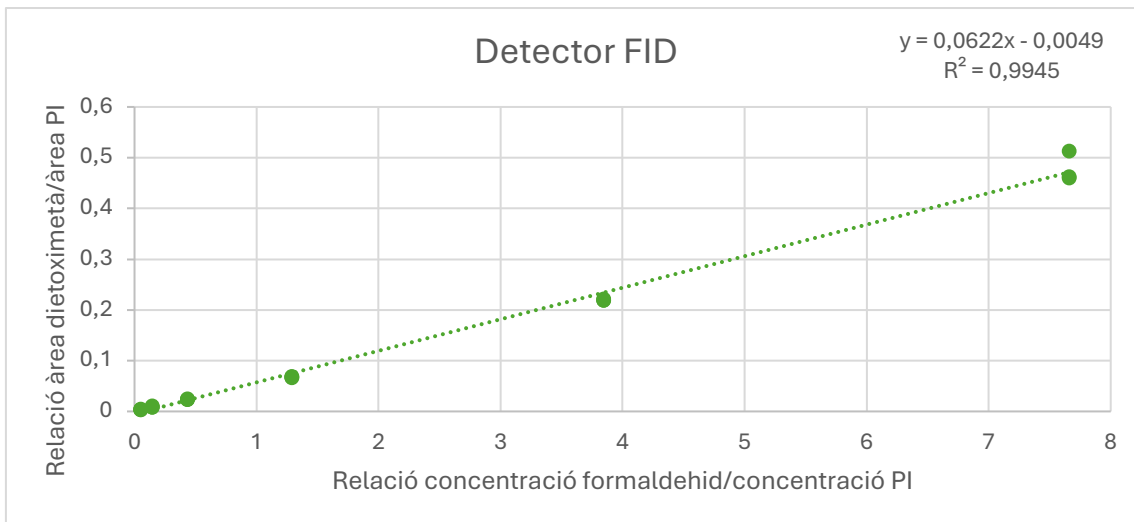
Patró	Pes solució formaldehid (37%, g)	Pes del patró anterior (g)	Pes d'emulsió sense formaldehid (g)	Concentració de l'emulsió (mg/L)	Concentració en el vial d'injecció (mg/L)
1	0,03		6,00	400,0	25,00
2		3,50	3,50	200,0	10,00
3		2,25	4,50	70,0	4,00
4		2,25	4,50	20,0	1,00
5		2,25	4,50	7,5	0,50
6		2,25	4,50	2,5	0,10
7		2,25	4,50	1,0	0,05
8		2,25	4,50	0,5	0,02

La preparació dels vials d'injecció es realitza seguint exactament el mateix procediment que en la calibració en medi aquós: 0,25 g de mostra, 0,20 g de PI i 4,00 g de derivatitzant, incubats 90 minuts a 70 °C abans de la injecció.

5.3.1. Linealitat

El interval de linealitat que es prova inicialment és de 0,5 mg/L fins a 430 mg/L de formaldehid. No obstant això, al construir la recta de calibratge i analitzar els resultats s'evidencia que als nivells més baixos la resposta no és òptima, ja que aquests punts es troben prop del límit de detecció i no es quantifiquen amb precisió suficient.

Per aquest motiu, es redefineix la linealitat del mètode entre 2,5 mg/L i 430 mg/L, construint les rectes de calibratge finals per al detector MS i FID, utilitzant els estàndards de formaldehid derivatitzat (Il·lustració 12). En ambdós casos, s'ha representat a l'eix Y la relació entre les àrees del derivat i del patró intern, i a l'eix X, la relació de concentració entre el formaldehid i el patró intern.



Il·lustració 12. Rectes de calibratge per al detector FID i MS.

L'ajust del model lineal mitjançant el mètode dels mínims quadrats mostra una excel·lent correlació, amb un coeficient de determinació de $R^2 = 0,9945$ per al detector FID i de $R^2 = 0,9916$ per al detector MS. Aquests valors confirmen una relació directa i ben definida entre l'àrea i la concentració de l'analit ($R^2 > 0,99$).

A més, per complementar la validació, s'han calculat els residuals (e_i) de cada punt respecte a la recta ajustada. Aquests s'han representat gràficament a la Il·lustració 13 per a ambdós detectors.



Il·lustració 13. Gràfics dels residuals de les rectes de calibratge per ambdós detectors.

En el cas del detector FID, els residuals es mantenen molt pròxims a zero en tot el interval de concentracions analitzat, amb una variació entre -0,015 i 0,007, indicant un molt bon ajust. Tot i això es pot veure una tendència a l'augment de l'error amb l'augment de la concentració. L'únic valor destacable correspon a la concentració a 215 mg/L de formaldehid, tot i que el seu error relatiu es troba per sota del 30% de la senyal ajustada.

El valor amb l'error relatiu més gran (29%) es troba en la concentració de 2,7 mg/L, punt situat a l'inferior del interval i afectat per la possible interferència d'una impuresa. Això, sumat a que el detector FID té una menor sensibilitat respecte al MS, pot incrementar la relació senyal/soroll en aquest punt.

Pel que fa al detector MS, els residuals es distribueixen també de forma equilibrada, amb valors propers a zero i sense tendència aparent. A l'igual que en el detector FID, els valors absoluts més alts corresponen a concentracions més altes. El valor que presenta un major error relatiu (18%) és el punt de 24 mg/L de formaldehid, valor acceptable dins dels criteris establerts.

En conclusió, a excepció del punt a 2,7 mg/L en el FID, la resta de punts confirmen una bona linealitat i fiabilitat del mètode en el interval seleccionat.

5.3.2. Límits de detecció i quantificació

Els límits de detecció (LOD) i quantificació (LOQ) s'han calculat tenint en compte tant el perfil del blanc emprat (possibles interferències), com el soroll de fons (S/N). S'ha aplicat el criteri de 3 vegades la relació S/N per al LOD i de 10 vegades per al LOQ. Es presenten els valors obtinguts en la Taula 7.

Taula 7. Valors dels límits de detecció (LOD) i de quantificació (LOQ) per ambdós detectors.

Detector	S/N o blanc (àrea)	LOD (mg/L de formaldehid)	LOQ (mg/L de formaldehid)
FID	0,026	0,5	2,5
MS	402	0,01	2,5

En el FID, no hi ha cap pic que interfereixi, a part de la pròpia impuresa, però que apareix a un temps de retenció diferenciat del pic d'interès. En el cas del MS, si apareix un petit pic al mateix temps de retenció i amb el mateix ió (59 m/z) però la seva intensitat és inferior a 1/3 del senyal del límit inferior de la recta de calibratge.

Tot i que el límit de quantificació teòric en el MS es podria establir en 0,1 mg/L segons la relació S/N, l'estudi demostra que a aquest nivell la recta deixa de ser lineal. Per tant, s'assumeix que el LOQ del mètode és 2,5 mg/L.

5.3.3. Exactitud i precisió

Per avaluar la precisió del mètode s'ha realitzat un estudi de repetibilitat (n=10) en un mateix dia i la reproductibilitat de l'anàlisi entre dies (n=3) amb un mínim de 5 dies d'interval i dos analistes diferents. Aquests estudis es realitzen amb tres concentracions diferents representatives del interval (concentració baixa, mitjana i alta). Els resultats de la precisió del mètode (Taula 7) s'expressen com a desviació estàndard relativa (% RSD).

A més, per estimar l'exactitud del mètode, es calcula el percentatge de recuperació (n=3) respecte a la concentració teòrica afegida. Tots els resultats queden recollits en la Taula 8.

Taula 8. Exactitud i precisió del mètode.

Concentració de formaldehid afegida (mg/L)	FID			MS		
	Repetibilitat (%RSD) (n=10)	Reproductibilitat (interdía*, n=3)	Recuperació mitjana (envers concentració afegida, %)	Repetibilitat (%RSD) (n=10)	Reproductibilitat (interdía*, n=3)	Recuperació mitjana (envers concentració afegida, %)
2	16,75	7,08	126,36	10,82	8,45	108,73
29	4,08	12,19	98,72	2,96	10,91	106,51
245	3,45	12,51	98,97	2,74	16,09	103,56

*Interdía: mostres preparades en diferents dies amb canvi d'analista i variació de la concentració del patró intern \pm 10 mg/L).

Els resultats mostren una molt bona repetibilitat (<5% RSD) en concentracions mitjanes i altes, mentre que en els nivells baixos, aquesta repetibilitat disminueix, especialment amb el FID. En reproductibilitat, en general hi ha més variació, però també s'afegeixen més factors com és el canvi de tècnic o petites variacions en la concentració del patró intern. Si es comparen ambdós detectors, s'observa que el MS té una millor repetibilitat dintre d'un mateix dia, però en la reproductibilitat, és més estable el detector FID.

Pel que fa a l'exactitud, ambdós detectors mostren valors de recuperació dins del interval acceptable (70 – 110%) a excepció del interval més baix de concentració en el detector FID. Aquest resultat es coherent amb el que s'ha comentat anteriorment en l'apartat 5.3.1. on s'observava l'alta desviació residual en aquest punt, trobant-se en el límit d'acceptació.

5.3.4. Efecte matriu

Per avaluar l'efecte matriu, es comparen les rectes de calibratge obtingudes en medi aquós junt amb les obtingudes en matriu real, com es mostra en la Taula 9. Aquest estudi permet determinar fins a quin punt la presència de la matriu influeix tant en la conversió de formaldehid a dietoximetà com en la resposta cromatogràfica.

Taula 9. Efecte de la matriu en el mètode.

Concentració formaldehid (mg/L)	Efecte matriu (%)
155	-65,79
77	-84,91
26	-91,67

En el cas del detector FID, la pendent de la recta de calibratge amb matriu representa un 40% respecte a la pendent obtinguda en aigua, la qual cosa implica una supressió del senyal del 60%. De manera similar, en el detector MS hi ha una supressió del 42% en la resposta analítica.

També s'ha calculat l'efecte matriu en tres concentracions diferents, i com es pot veure en la Taula 9, en tots els casos hi ha una supressió de la matriu major del 20%, fet que evidencia la importància d'aquest efecte i justifica la necessitat de calibrar sempre en la mateixa matriu. Cal destacar que la supressió augmenta en concentracions més baixes.

5.3.5. Robustesa

La robustesa del mètode s'ha avaluat mitjançant un estudi d'addicions estàndard sobre les diferents famílies d'emulsions, amb l'objectiu de comprovar la robustesa del mètode en condicions de matriu diverses. S'ha utilitzat aquesta forma d'addició ja que en el cas de les emulsions viníliques no es disposa de ningun producte que contingui una concentració nul·la de formaldehid.

Degut a això, s'han preparat mostres d'emulsió amb diferents nivells d'addició de formaldehid, aproximadament:

1. Emulsió sense afegir formaldehid.
2. Emulsió afegint 3,5 mg/L de formaldehid.
3. Emulsió afegint 15 mg/L de formaldehid.
4. Emulsió afegint 30 mg/L de formaldehid.
5. Emulsió afegint 280 mg/L de formaldehid.

El que es busca amb aquestes addicions és cobrir tant el interval baix de concentracions com el interval alt, de forma que es pot observar si hi ha més error en concentracions petites o concentracions grans.

Per garantir la comparabilitat dels resultats, s'ha ajustat el contingut en sòlids de totes les mostres al 38,40%, valor corresponent a l'emulsió de referència utilitzada en la recta de calibratge. La igualació del contingut en sòlids dintre del vial permet garantir que totes les mostres tenen una matriu "equivalent", amb el mateix contingut d'aigua i de polímer. Així, s'assegura que la derivatització, l'extracció en el HS i la resposta cromatogràfica són comparables entre si, minimitzant la variabilitat en el canvi d'emulsió i per tant, evitant que es comprometi la fiabilitat del mètode. Per la preparació de les mostres, s'ha seguit l'indicat en la Taula 10.

Taula 10. Preparació d'addicions estàndard en diferents emulsions. Els nivells 2, 3 i 4 es preparen a partir de la dilució amb més emulsió de nivell 1.

NIVELL	Pes d'emulsió (g)	Pes de formaldehid (37 % p/p, g)	Pes del nivell 1 (g)	Concentració en l'emulsió (mg/L)
0				x
1	18	0,05		x + 280
2	9		1,1	x + 30
3	9		0,5	x + 15
4	16		0,2	x + 3,5

A continuació, s'adjunta la Taula 11 que conté tots els resultats obtinguts en diferents matrius. Únicament s'han extret i analitzat els valors donats pel detector d'espectrometria de masses, ja que com s'ha vist prèviament, proporciona un interval de linealitat més ampli, cobrint concentracions més baixes. En el producte IQLIT 4, al realitzar la preparació de la mostra, aquesta precipita, pel qual s'ha d'optimitzar la relació d'etanol:aigua del derivatitzant i veure en properes proves si hi ha més mostres que es vegin afectades per aquest paràmetre, ja que es pot confirmar que és la que pitjor resultats dona, sobreestimant la quantitat de formaldehid afegida.

En la resta de productes, a excepció d'un dels nivells del IQLIT 3, la quantificació és bastant acurada i proporciona resultats fiables en diferents famílies d'emulsions.

Taula 11. Addicions estàndard en diferents matrius per corroborar la robustesa del mètode.

Producte	[Formaldehid esperada] (mg/L)	[Formaldehid mesurada MS] (mg/L)	% Recuperació MS (n = 3)
IQLIT 1 (blanc)	x	237	
IQLIT 1 (nivell 4)	x + 3,5	227	94
IQLIT 1 (nivell 3)	x + 15	271	108
IQLIT 1 (nivell 2)	x + 31	280	104
IQLIT 1 (nivell 1)	x + 280	551	107
IQLIT 2 (blanc)	a	60	
IQLIT 2 (nivell 4)	a + 4	68	106
IQLIT 2 (nivell 3)	a + 16	77	101
IQLIT 2 (nivell 2)	a + 32	86	93
IQLIT 2 (nivell 1)	a + 300	395	110
IQLIT 3 (blanc)	b	108	
IQLIT 3 (nivell 3)	b + 20	104	82
IQLIT 3 (nivell 2)	b + 100	214	103
IQLIT 3 (nivell 1)	b + 200	345	112
IQLIT 4 (blanc)	c	10	
IQLIT 4 (nivell 5)	c + 1,5	11	101
IQLIT 4 (nivell 4)	c + 6	17	108
IQLIT 4 (nivell 3)	c + 12	22	102
IQLIT 4 (nivell 2)	c + 57	81	122
IQLIT 4 (nivell 1)	c + 114	148	120

Amb aquest conjunt d'assaigs, es pot confirmar que el mètode desenvolupat presenta una alta robustesa i és aplicable a diferents tipus d'emulsions. A més a més, els resultats han estat corroborats externament per mètodes independents, la qual cosa reforça la seva validesa en condicions reals d'anàlisi.

5.4. Anàlisi de mostres reals

Complementàriament al desenvolupament i validació del mètode per HS-GC-FID/MS, s'ha determinat la concentració de formaldehid en diferents mostres reals mitjançant mètodes alternatius habituals a l'empresa, com són HPLC-DAD utilitzant el reactiu Nash, o bé les tires reactives MQuant (Taula 12). Cal destacar que les tires reactives poden reaccionar amb altres aldehids (com l'acetaldehid) o cetones, però que el color de reacció és diferent.

Taula 12. Anàlisi de mostres reals i comparació amb altres mètodes.

Producte	Concentració de formaldehid (mg/L)		
	HS-GC-MS	HPLC-DAD	Tires reactives
IQLIT 1 (blanc)	237	30	200
IQLIT 2 (blanc)	60	10	40
IQLIT 3 (blanc)	108	80	140
IQLIT 4 (blanc)	10	2	0 - 10

Es pot observar que hi ha bastanta discrepància entre els resultats obtinguts per HS-GC-MS i els obtinguts mitjançant HPLC-DAD. Es creu que això pot ser degut a que el mètode de cromatografia líquida no va ser correctament validat en el seu desenvolupament, ja que s'utilitza solució aquosa per la preparació dels nivells a l'hora de realitzar la calibració., fet que introdueix efecte matriu sense tenir-lo en compte. A més, tampoc s'ha arribat a estudiar amb deteniment el percentatge de recuperació del formaldehid en el tractament de mostra (centrifugació), si tot el formaldehid es desplaça a la fase aquosa o se'n queda en el polímer.

En comparació amb les tires reactives, malgrat que hi ha una discrepància, els valors són comparables i es pot assumir que la quantitat determinada es mou en el mateix interval.

5.5. Comparació de mètodes: HPLC-DAD vs HS-GC-FID/MS

Si es comparen els dos mètodes per la determinació de formaldehid a l'empresa (derivatització amb Nash i detecció per HPLC-DAD front a la derivatització amb etanol i anàlisi per HS-GC-FID/MS) es poden veure els diferents avantatges i desavantatges de cadascun d'ells enfocats en l'emulsió polimèrica en base aquosa.

Els avantatges dels mètodes convencionals, en aquest cas HPLC-DAD, són:

- Mètodes molt desenvolupats i robusts fàcils d'implementar en els laboratoris.
- Són mètodes reconeguts per proporcionar resultats fiables en temes de reglamentació.
- L'equip és l'habitual i és fàcil trobar-lo en qualsevol laboratori.
- Compatible amb mostres aquoses que es poden analitzar directament.

Malgrat això, els desavantatges que presenten aquests tipus de mètodes són:

- És necessari un pretractament de la mostra ja que no es pot injectar directament en el cromatògraf. Requereix d'una centrifugació prèvia i per tant, d'una centrífuga.
- Es tracta d'una derivatització sensible en el cas del Nash, ja que el derivat és sensible a la llum i al temps.
- Hi ha un major risc d'interferències que puguin absorbir a la mateixa longitud d'ona del detector UV i donar errors en la identificació i quantificació.
- Actualment, la calibració no té en compte l'efecte de la matriu, ni en el tractament de mostra ni en l'anàlisi cromatogràfica.
- No s'ha corroborat que la recuperació del formaldehid en la centrifugació sigui del 100%.

Si s'analitzen els avantatges que presenta l'anàlisi mitjançant HS-GC tant en detector FID com MS són els següents:

- No requereix d'un pretractament de la mostra. Es realitza l'anàlisi directament en el vial cromatogràfic, però s'analitza la fase gas.
- L'injector HS proporciona una forma senzilla d'injectar els compostos volàtils extrets al cromatògraf i evita interferències de la matriu no volàtil (alta especificitat).
- Preparació de la mostra més ràpida i senzilla.
- Proporciona una major sensibilitat amb límits de detecció més baixos.

Tot i això, la seva implementació té alguns desavantatges:

- Necessita equipament més especialitzat. L'injector HS o el detector MS no és tan comú en tots els laboratoris.

- Mètodes molt menys desenvolupats i normalment no acceptats per les regulacions per l'anàlisi de formaldehid.

En el cas del laboratori d'I+D d'IQLIT, el principal desavantatge en la utilització del mètode pel HPLC és la centrifugació de la mostra, ja que al ser l'emulsió tan estable pot durar des de 3 hores fins a 12 hores depenent de cada producte. A més, aquest mètode només està calibrat per detectar formaldehid d'entre 1 i 10 ppm, un interval bastant petit per la gran varietat de productes i concentracions que hi ha.

6. Conclusions

Al llarg d'aquest treball s'ha desenvolupat i validat un mètode poc estudiat i innovador per a la determinació de formaldehid en emulsions aquoses, basat en la derivatització amb etanol i anàlisi mitjançant cromatografia de gasos amb detectors FID i MS. Les condicions òptimes de derivatització s'han establert en una temperatura de 70 °C durant 90 minuts, amb un 50% d'etanol en el derivatitzant, assegurant una conversió completa.

Els resultats han mostrat una excel·lent linealitat en un interval de 2,5 a 430 mg/L per ambdós detectors, amb coeficients de determinació superiors a 0,99 i residuals dins dels límits acceptables (<30% respecte la senyal). En el detector FID, s'ha observat una menor sensibilitat a concentracions baixes a causa d'interferències i menor senyal/soroll, mentre que el detector MS ha ofert una resposta més robusta i precisa.

Els límits de detecció i quantificació assolits han estat notòriament més baixos en el MS (LOQ = 2,5 mg/L). La precisió i exactitud del mètode han estat confirmades amb RSD <5% a concentracions mitjanes i altes, i recuperacions entre el 95 i 110%, mostrant també una bona reproductibilitat entre dies i diferents analistes.

Pel que fa a l'efecte matriu, s'ha evidenciat una supressió important de la resposta analítica (fins al 60%), fet que demostra la necessitat de calibració en matriu per evitar subestimacions. Addicionalment, l'estudi de robustesa mitjançant addicions estàndard en diferents emulsions ha confirmat que el mètode es manté estable i fiable, independentment de la composició del producte, amb excepció d'un cas puntual que precipita amb el derivatitzant.

Finalment, la comparació amb altres mètodes (HPLC-DAD i tires reactives) ha posat de manifest les limitacions de les tècniques clàssiques, especialment pel que fa a la recuperació i l'efecte matriu no considerat, així com l'exigència de pretractament. En canvi, el mètode desenvolupat permet una anàlisi directa, específica i ràpida, amb una millor adaptabilitat a les condicions reals del laboratori d'I+D, que ja s'ha incorporat en l'anàlisi rutinari de l'emulsió, proporcionant informació fiable de forma ràpida i factible.

7. Bibliografia

- (1) ATSDR. *Agency for Toxic Substances and Disease Registry – Formaldehyde Public Health Statement*. https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs111.html
- (2) Lovell, P. A.; El-Aasser, M. S. *Emulsion Polymerization and Emulsion Polymers*; Wiley: Chichester, **1997**.
- (3) Gilbert, R. G. *Emulsion Polymerization: A Mechanistic Approach*. Academic Press: London **1995**.
- (4) Q. Zhong, S. S. N. L. S. et al. ., Degradation of a Pharmaceutical in HPLC Grade Methanol Containing Trace Level Formaldehyde. *Pharm Dev Technol* **2013**, *18* (4), 877–882.
- (5) PerkinElmer Inc. *Detection and Quantification of Formaldehyde by Derivatization with Pentafluorobenzylhydroxyl Amine in Pharmaceutical Excipients by Static Headspace GC/MS*; Application Note, **2011**. <https://www.perkinelmer.com>
- (6) Gobierno de España. *Métodos de toma de muestras y análisis*. BOE. Ministerio de la Presidencia. Disponible en: <http://cpage.mpr.gob.es>
- (7) Instituto Politécnico Nacional. *Síntesis y caracterización de la p-toluensulfonamida formaldehído para su aplicación en la industria cosmetológica*; Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas, **2011**.
- (8) Yuniati, W.; Amelia, T.; Ibrahim, S.; Damayanti, S. Analytical Method Development for Determining Formaldehyde in Cream Cosmetics Using Hyphenated Gas Chromatography. *ACS Omega* **2021**, *6* (42), 28403–28409. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c04792>.
- (9) Daoudy, B. D. A. D.; Al-Khayat, M. A.; Karabet, F.; Al-Mardini, M. A. A Robust Static Headspace GC-FID Method to Detect and Quantify Formaldehyde Impurity in Pharmaceutical Excipients. *J Anal Methods Chem* **2018**, *2018*. <https://doi.org/10.1155/2018/4526396>.
- (10) Su, T.; He, R. Methods in Determination of Formaldehyde. In *Formaldehyde and Cognition*; Springer Netherlands, **2017**; pp 271–295. https://doi.org/10.1007/978-94-024-1177-5_14.

- (11) Regulation (EC) No 1272/2008 of the European Parliament and of the Council on Classification, Labelling and Packaging of Substances and Mixtures (CLP).
- (12) Reglament (CE) núm. 1907/2006 del Parlament Europeu i del Consell, relatiu al registre, l'avaluació, l'autorització i la restricció de les substàncies i preparats químics (REACH). Diari Oficial de la Unió Europea 2006, L396, 1–849.
- (13) Comissió Europea. Decisió 2022/1229 de la Comissió, de 25 de juliol de 2022, per la qual es modifiquen els criteris de l'Ecolabel. Diari Oficial de la Unió Europea 2022, L190.
- (14) Unió Europea. Reglament (UE) 10/2011 Relatiu als materials i objectes plàstics destinats a entrar en contacte amb aliments. DOUE 2011, L12.
- (15) Agilent Technologies. Agilent 7697A Headspace Sampler Advanced Operation Notices Manual, Edition 2011.
- (16) Agilent Technologies. System Parameter and Performance Comparison Between Agilent 7697A and Agilent G1888A Headspace Samplers for USP <467>, Technical Note.

