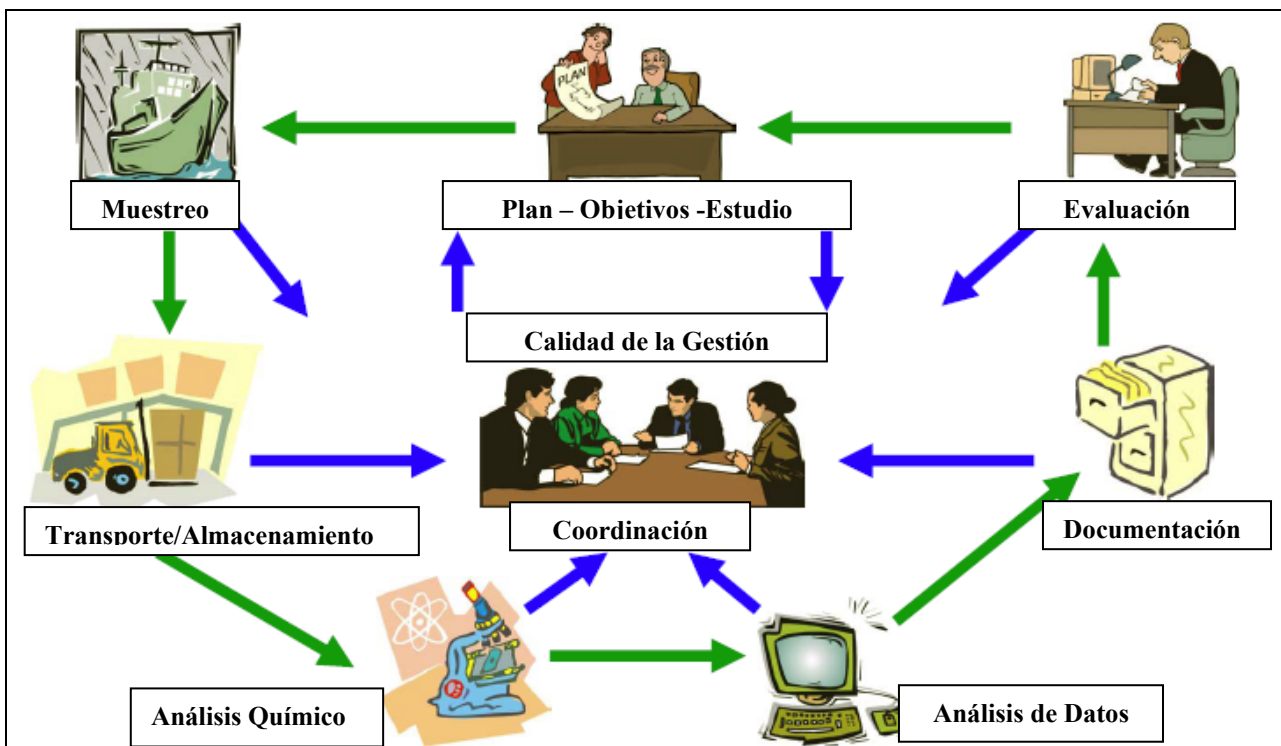




Guía para el Análisis de Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP)



PNUMA Subdivisión de Productos Químicos, DTIE

Marzo 2007

**Guía para el Análisis de Contaminantes
Orgánicos Persistentes (COP)**

Marzo 2007

Esta publicación refleja las conclusiones y recomendaciones para el análisis de COP provenientes de los tres Talleres Regionales celebrados dentro del Proyecto PNUMA-FMAM "Evaluación de las Capacidades Existentes y Necesarias para el Análisis de Contaminantes Orgánicos Persistentes en los Países en Desarrollo". El Proyecto es financiado por el Fondo para el Medio Ambiente Mundial e implementado por el PNUMA, a través de PNUMA Productos Químicos. El cofinanciamiento del proyecto corrió a cargo de los Gobiernos de Canadá, Alemania y Japón y el apoyo técnico fue proporcionado por PNUMA Productos Químicos.

Durante la primera fase, fueron celebrados los tres Talleres del Proyecto:

- 5-9 Septiembre 2005 para países de América Latina y el Caribe en Montevideo, Uruguay
- 4-6 Octubre 2005 para países de África en Pretoria, África del Sur, y
- 13-16 Diciembre 2005 para países de Asia y Europa Central y del Este en Beijing, RP China

El diseño y el material de presentación empleado, no implica expresión alguna de cualquier opinión de parte de las Naciones Unidas o PNUMA concernientes al estatus legal de cualquier país, territorio, ciudad, área o cualquiera de sus autoridades, o concernientes a cualquier delimitación de sus fronteras. Cualquier punto de vista expresado en el documento no refleja necesariamente el punto de vista del PNUMA.

Esta publicación fue preparada por la Directora de Proyecto, Dra. Heidelore Fiedler, Subdivisión de Productos Químicos del PNUMA, DTIE. Los comentarios e insumos provenientes de Dr. Gunilla Lindström, Dr. Bert van Bavel (ambos de la Universidad de Örebro, Suecia), Dr. Jacob de Boer (Universidad Libre de Amsterdam) y Dr. Wayne Whipple (US-EPA) fueron altamente apreciados.

Titulo de página: Figura, cortesía de Dr. Jacob de Boer, IVM VU Amsterdam, Holanda

Esta publicación es producida dentro el marco del Programa Inter-Organizaciones para el Manejo Seguro de Productos Químicos (IOMC)

El Programa Inter-Organizaciones para el Manejo Seguro de Productos Químicos (IOMC) fue establecido en 1995 por PNUMA, OIT, FAO, OMS ONUDI y OCDE (Organizaciones Participantes), siguiendo las recomendaciones hechas por la Conferencia de Naciones Unidas de 1992 sobre Medio Ambiente y Desarrollo para fortalecer la cooperación e incrementar la coordinación en el campo de la seguridad química. En Enero de 1998, UNITAR se unió formalmente a IOMC como una Organización Participante. El propósito de IOMC es promover la coordinación de las políticas y actividades relativas a las Organizaciones Participantes, de manera conjunta o separadamente para alcanzar el manejo seguro de productos químicos en relación con la salud humana y el medio ambiente.

El material de esta publicación puede ser cotizado o reproducido libremente, pero se solicita un conocimiento de ello junto con una referencia del número del documento. Una copia de la publicación que contiene la cotización o reimpresión debe ser enviada a PNUMA Productos Químicos.

Copias de este informe están disponibles en:

Subdivisión de Productos Químicos PNUMA, DTIE
Casa Internacional del Medio Ambiente
11-13 chemin des Anémones
CH-1219 Châtelaine (Geneva), Switzerland
Tel.: +41 (22) 917 8170
Fax: +41 (22) 797 3460
e-mail: chemicals@unep.ch

La Subdivisión de Productos Químicos del PNUMA es parte de la División de Tecnología, Industria y Economía del PNUMA

Guía para el Análisis de los Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP)

Tabla de Contenido

	Página
Tabla de Contenido	i
Abreviaturas y Acrónimos.....	ii
1 Introducción	1
2 Análisis de los COP	3
2.1 Muestreo	4
2.1.1 Procedimientos Generales de Muestreo.....	5
2.1.2 Infraestructura y Organización	5
2.1.3 Procedimiento Normalizado de Operación.....	6
2.1.4 Subcontratación de un Laboratorio de Muestreo.....	7
2.2 Transporte y Almacenamiento.....	7
2.3 Análisis	8
2.3.1 Organización e Infraestructura.....	8
2.3.2 Extracción	9
2.3.3 Purificación:.....	10
2.3.4 Separación.....	10
2.3.5 Identificación	11
2.3.6 Cuantificación.....	12
2.3.7 Reporte.....	13
2.3.8 Definiciones	14
2.4 Aspectos Importantes a Considerar en lo Adelante.....	15
2.4.1 Mantenimiento de Equipos	15
2.4.2 Entrenamiento del Equipo de Trabajo del Laboratorio.....	15
2.4.3 Acondicionamiento	15
3 Referencias.....	16

Abreviaturas y Acrónimos

°C	Grados Celsius
%	Por ciento
AC	Aseguramiento de la calidad
AOQA	Asociación Oficial de Químicos Analíticos
ASTM	Sociedad Americana para Ensayos y Materiales
BPC	Bifenilos policlorados
CC	Control de la calidad
CdP	Conferencia de las Partes
CE	Convenio de Estocolmo
CE	Comisión Europea
CG	Cromatografía de gases
COP	Contaminantes orgánicos persistentes
DDE	Diclorodifenildicloroetileno, metabolito del DDT
DDT	Diclorodifeniltricloroetano
DTIE	División de Tecnología, Industria y Economía
EAS	Extracción acelerada con solventes
ECD	Detector de captura electrónica
EFS	Extracción en fase sólida
EFP	Extracción con fluido presurizado
EPA	Agencia de Protección Ambiental
EUA	Estados Unidos de América
FMAM	Fondo para el Medio Ambiente Mundial
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficiencia
HRGC	Cromatografía gaseosa de alta resolución
HRMS	Espectrometría de masa de alta resolución.
LC	Límite de cuantificación
LD	Límite de detección
MS	Selectivo de masa (para detector)
MTD	Mejores técnicas disponibles
MPA	Mejores prácticas ambientales
ND	No determinado
OCDE	Organización de Cooperación y Desarrollo Económico

OHS	Sistema en lo alto, sobre la cabeza
OMS	Organización Mundial de la Salud
PCDD	Dibenzo- <i>p</i> -dioxinas policloradas
PCDE	Éteres difenilpoliclorados
PCDF	Dibenzofuranos policlorados
PNO	Procedimiento normalizado de operación
PNUMA	Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (UNEP por sus siglas en inglés)
SI	Sistema Internacional (de Unidades)
SIM	Monitoreo selectivo de iones
SMMA	Sistema mundial de monitoreo ambiental
SPG	Sistema de posicionamiento global
SCE	Secretaría del Convenio de Estocolmo (SSC por sus siglas en inglés)
UE	Unión Europea

Unidades

kg	kilogramo
g	gramo
mg	miligramo
µg	microgramo
pg	picogramo
fg	femtogramo
mL	mililitro
µL	microlitro
m ³	metro cúbico
ppqt	partes por cuatrillón
ppm	partes por millón

Guía para el Análisis de Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP)

1 INTRODUCCIÓN

PNUMA Productos Químicos está ejecutando un proyecto de mediana escala financiado por el FMAM “Evaluación de las Capacidades Existentes y Necesidades de Creación de Capacidades para el Análisis de COP en los Países en Desarrollo” (para información adicional, véase <http://www.chem.unep.ch/pops/laboratory/default.htm>). Además del FMAM, los Gobiernos de Canadá, Alemania y Japón también contribuyeron financieramente a este proyecto. Este proyecto de una duración de 2 años tiene como objetivo la evaluación de las necesidades nacionales para el análisis de COP en laboratorios, según las obligaciones del Convenio de Estocolmo sobre COP, y las condiciones necesarias para realizar estos análisis de una manera sostenible. El Proyecto está enfocado en el análisis de los 12 COP listados en los Anexos A, B y C del Convenio de Estocolmo. Según el Convenio, las necesidades para el análisis de COP, resultan principalmente de tres áreas:

1. Evaluación de la eficacia de la aplicación del Convenio de Estocolmo (Artículo 16) con las matrices de aire ambiente, leche materna y sangre humana para la primera evaluación en el año 2008. Estas matrices están prescritas en la decisión CE 2/13 de la segunda reunión de la Conferencia de las Partes del Convenio de Estocolmo (SC COP-2 2006);
2. Valores límites para PCDD/PCDF (Artículo 5), para los cuales el Grupo de Expertos sobre MTD/MPA ha sugerido niveles alcanzables en emisiones de chimeneas (borrador de los capítulos de las Directrices revisadas para descarga de la página Web del CE http://www.pops.int/documents/batbep_advance/intersessional_work/draft_guide.htm, SSC 2006);

Los resultados de este proyecto PNUMA/FMAM incluyen:

1. Un banco de datos de laboratorios operativos en todo el mundo, de acuerdo a sus capacidades para analizar clases de COP en matrices diferentes. Los datos serán almacenados en un banco de datos accesible y con funciones de búsqueda;
2. Criterios recomendados para:
 - (a) Muestreo, identificación y cuantificación de COP;
 - (b) Operar de una manera sostenible laboratorios para el análisis de COP.

La Subdivisión Productos Químicos del PNUMA, DTIE, ha establecido un banco de datos de laboratorios de COP, conteniendo información sobre laboratorios con experiencias en el análisis de COP, que fue reunida por un cuestionario proveído a través de este proyecto. El banco de datos es accesible en la página Web del proyecto.

Desde Septiembre hasta Diciembre del año 2005, fueron celebrados tres talleres regionales y los participantes de cuatro regiones han propuesto criterios que generarían una alta calidad de datos de COP. Los informes individuales de los talleres (PNUMA/FMAM 2005) pueden ser descargados desde <http://www.chem.unep.ch/pops/laboratory/workshops.htm>.

Este informe ha sido compilado como guía para los laboratorios que ejecutan análisis de COP, basado en los resultados de los tres talleres regionales y enmendado a través de las

experiencias ganadas durante las visitas a los laboratorios pilotos que participaron en este proyecto PNUMA/FMAM y del entrenamiento emprendido en el curso del mismo.

2 ANÁLISIS DE LOS COP

El propósito de esta guía es proveer información para los laboratorios y clientes de cómo producir datos confiables para concentraciones de contaminantes orgánicos persistentes (COP) en varias matrices. La aplicación de esta guía debe asistir para generar resultados de calidad comparable, que forman la base para la aceptación mutua de datos entre los países. Si los clientes pueden contar con resultados analíticos desarrollados en otros países u otros laboratorios, puede ser evitada la duplicación de trabajos y ensayos, salvando de este modo, tiempo y dinero. En muchos aspectos, los análisis de COP no difieren de cualquier otro análisis químico para la determinación de la concentración másica de un analito de interés en una matriz dada. Por lo tanto, esta guía incluye elementos de prácticas comunes, tales como aspectos de los “Principios de Buenas Prácticas de Laboratorio” (OCDE 1998) y descripciones encontradas en otro sitio o ya estando en lugar en laboratorios debido a otros tipos de análisis químicos. No obstante, hay ciertos criterios específicos para los análisis de COP y estos deben ser tomados en consideración cuando los análisis se ejecutan para servir a los acuerdos ambientales multilaterales, tales como los Convenios de Róterdam, Estocolmo y Basilea. También debe notarse que hay una mejora constante en técnicas analíticas e instrumentación y por lo tanto, esta guía debe ser considerada como un documento viviente a ser enmendado y recomendado para consulta de lectura ulterior y otras fuentes de información.

Información ulterior sobre análisis de COP, puede ser encontrada en materiales escritos preparados bajo este proyecto PNUMA/FMAM, tales como los documentos de entrenamiento y las presentaciones de los talleres.

Como para cualquier otro análisis químico, los análisis de COP incluyen los tres pasos principales siguientes:

1. Muestreo;
2. Transporte y almacenamiento de las muestras;
3. Análisis (extracción, purificación, separación, identificación cuantificación e informe).

Antes del inicio de cualquier análisis de COP, un diseño adecuado del estudio tiene que ser establecido para asegurar que el muestreo y el análisis subsiguiente alcanzarán los objetivos del estudio. Por lo tanto, se necesita establecer una estrecha cooperación entre el laboratorio y el cliente para entender los objetivos del estudio y acomodar adecuadamente todas las necesidades. Todas las actividades mencionadas arriba, bajo (1) a (3) deben ser conducidas por profesionales entrenados, de acuerdo a un plan bien diseñado y utilizando métodos aprobados nacional o internacionalmente, llevando a cabo cada vez, el mismo método sobre el espacio de tiempo del programa. Se sobreentiende que los errores en el muestreo ó análisis y reporte ó almacenamiento de datos ó cualquier desviación de los procedimientos normalizados de operación, pueden resultar en datos sin sentidos o de igual forma, en datos que dañan el programa.

El control de la calidad y el aseguramiento de la calidad son factores importantes en el muestreo y análisis. Cualquier comportamiento del método debe ser verificado a través de tablas de control, donde los rangos de operación óptimos están definidos y los análisis

periódicos de materiales de referencia certificados, materiales de referencia del propio laboratorio, y muestras ciegas ó divididas debe ser incluidas en la rutina de AC/CC (Nota: el suministro de tales materiales debe ser asegurado). Los ejercicios de intercalibración son un componente esencial en el aseguramiento de la calidad de los resultados y son considerados indispensables en la aplicación de una red regional de laboratorios. Una recomendación sería que al menos una vez al año, sea llevado a cabo un estudio de intercalibración para cada matriz y COP de interés en la región.

Los laboratorios pueden adoptar los métodos UE / EPA / AOQA/ ASTM, *etc.* u otros métodos publicados para extracción de muestras, limpieza y análisis, y tienen que validar estos dentro del laboratorio. Los requisitos básicos son:

- El laboratorio debe ser capaz de probar competencia para infraestructura, instrumentación y equipo de trabajo bien entrenado para conducir análisis específicos;
- Validación de los métodos analíticos, incluyendo los métodos propios;
- Procedimientos normalizados de operación (PNO) para los métodos validados, incluyendo todo el equipamiento de laboratorio y materiales de consumo;
- Criterios de calidad para AC/CC descritos en los PNO, ej.: análisis de muestras blanco, utilización de materiales de referencia, relación señal/ruido, y sensibilidad del sistema analítico.

Debido a que existen numerosas razones para el muestreo y análisis de COP y a que también hay muchas matrices y numerosos métodos que pueden ser utilizados, está más allá del alcance de este documento discutir estos métodos. Sin embargo, en las cuatro próximas secciones, son considerados los puntos claves para el muestreo, transporte, almacenamiento y análisis.

2.1 Muestreo

El objetivo de cualquier actividad de muestreo es obtener una muestra que puede servir para al objetivo del estudio comisionado por el cliente. En esta actividad se considera indispensable asegurar la representatividad e integridad de la muestra durante todo el proceso de muestreo. Adicionalmente, son indispensables los requisitos de calidad en términos de equipamiento, transportación, normalización y trazabilidad. Es importante que todos los procedimientos de muestreo estén acordados y documentados antes de comenzar una campaña de muestreo.

Dependiendo del objetivo del muestreo, deben ser determinados el analito (= COP de interés), la matriz, sitio de muestreo, tiempo ó frecuencia y las condiciones de muestreo.

Aunque puede ser demasiado costoso obtener la acreditación total para el muestreo, deben ser establecidos los procedimientos de Aseguramiento de la calidad/control de la calidad (AC/CC) para el muestreo.

2.1.1 Procedimientos Generales de Muestreo

Los procedimientos generales de muestreo incluyen:

- Preparación de equipo(s) de muestreo(s), envío de muestreadores eventualmente;
- Establecimiento de criterios para la aceptación de muestras en el laboratorio;
- Establecimiento de procedimientos normalizados de operación para el muestreo;
- Establecimiento de procedimientos de aseguramiento de la calidad, Ej. blancos de campo, la cadena de custodia.

2.1.2 Infraestructura y Organización

Con respecto al muestreo, los requisitos indispensables, incluyen:

- Equipamiento: Tener adecuados instrumentos de muestreo, de acuerdo al tipo de matriz y de COP (dragas, HiVol, botellas de agua, *etc.*);
- Materiales: Instrumentación de muestreo que sea compatible con el analito, incluyendo utensilios, contenedores, *etc.* (acero inoxidable - vidrio, nunca plástico);
- Protección personal: Aquellos a cargo del muestreo, deben utilizar trajes de protección adecuada, dependiendo del tipo de muestras que trabajarán (guantes, botas de goma, gafas protectoras, *etc.*);
- Muestras blanco: Estas permiten la evaluación de la contaminación potencial;
- Preservación: Las muestras y muestras blancos serán preservadas de acuerdo a la matriz y requisitos del tipo de COP;
- Transportación: Transportación adecuada que minimiza la posibilidad de contaminar la muestra, asegurando su integridad y conservación hasta que la misma llegue al laboratorio a cargo del análisis;
- Disponibilidad de equipamiento de monitoreo en el sitio: Para medir los parámetros ambientales relevantes de acuerdo a cada medio ambiente. Deben ser registradas las condiciones ambientales;
- Georeferencia y registro fotográfico: Disponibilidad de SPG para localizar sitios de muestreo con precisión y asegurar la futura ubicación del sitio;
- Protocolo normalizado: Deben ser aplicados procedimientos de muestreo bien establecidos. Tales protocolos de muestreo han sido desarrollados por instituciones u organizaciones tales como ASTM (Sociedad Americana para Ensayos y Materiales), CE (Comisión Europea), EPA (Agencia de Protección Ambiental), SMMA (Sistema Mundial de Monitoreo Ambiental), OMS (Organización Mundial de la Salud). Sin embargo, se ha notado que tales protocolos deben ser actualizados o ajustados si es necesario;
- Etiquetado: Son necesarias etiquetas no ambiguas;
- Interfase entre el personal de muestreo y el laboratorio analítico: Una estrecha cooperación es crucial entre los proyectistas del proyecto, los muestreadores, el laboratorio analítico y los usuarios de los datos;

- Entrenamiento del personal: El personal debe estar suficientemente entrenado y familiarizado con las técnicas de muestreo. Un experto en ecosistemas es necesario en el grupo de muestreo y algunas personas locales pudieran actuar como guías;
- Capacidad de almacenamiento: El laboratorio debe tener una adecuada capacidad de almacenamiento. Ej. refrigeradores o congeladores a temperaturas estables y suficientemente bajas, para asegurar la integridad de las muestras. Estas temperaturas deben ser monitoreadas sistemáticamente y documentadas;
- Tratamiento de desechos: Consideración de tratamiento adecuado/ manipulación de los desechos generados durante el muestreo.

2.1.3 Procedimiento Normalizado de Operación.

Para cada tipo de matriz tiene que ser establecido un procedimiento normalizado de operación (PNO) (nota: pueden ser combinadas varias matrices similares). En estos PNO, deben ser consignados los siguientes requisitos:

- El objetivo del ejercicio de muestreo, incluyendo los protocolos de muestreo y las especificaciones;
- El tamaño de la muestra de acuerdo con los requisitos analíticos y las limitaciones para satisfacer las regulaciones u otros objetivos dados en el estudio.
- Descripción y ubicación geográfica de los sitios de muestreo, preferentemente con coordenadas SPG;
- Directrices para muestras representativas;
- Criterios para muestras compósitas. Ej. Número de sub-muestras, homogenización;
- Fecha, tiempo de la toma de muestra;
- Condiciones durante el muestreo;
- Intervalos de tiempo entre los ejercicios de muestreo;
- Especificaciones para el equipo de muestreo, incluyendo la operación, mantenimiento y procedimientos de limpieza;
- Identidad de la persona que ha tomado la muestra;
- Descripción total de las características de la muestra;
- Etiquetado (deben ser asignados números de muestra en el protocolo y tener las etiquetas preparadas en el campo);
- Etiquetado de muestras (en el campo) y registro de muestras para seguimientos posteriores;
- Indicación del nivel esperado de concentración de COP en la muestra;
- Cualquier observación adicional que pueda asistir en la interpretación de los resultados;
- Procedimientos de aseguramiento de la calidad para prevenir la contaminación cruzada.

El PNO debe contener también una sección con detalles sobre el equipo de protección personal que debe ser utilizado y un listado de otros intereses de seguridad, según sea apropiado.

2.1.4 Subcontratación de un Laboratorio de Muestreo

No pueden ser dadas recomendaciones generales, con respecto a quien debe ejecutar el muestreo. Mientras que para ciertas matrices, Ej. sangre humana, no hay dudas que un especialista, y no el laboratorio, Ej. un médico, doctor o enfermera tienen que tomar la muestra. Para muestras humanas, también tienen que ser respetadas consideraciones éticas. Existen ventajas e inconvenientes para subcontratar un especialista de laboratorio en toma de muestras:

- (a) Ventajas: Subcontratar el muestreo puede ser una ventaja para los laboratorios que no tienen el equipamiento y el personal requerido.
Pudiera asegurar una respuesta mas inmediata en una situación de emergencia;
- (b) Desventajas: El laboratorio debe estar seguro que el muestreo fue realizado dentro de las condiciones establecidas;
Si el laboratorio no está presente en la ubicación de muestreo, ello puede reducir el valor añadido para los análisis y su interpretación.

En el caso de que un laboratorio sea subcontratado para tomar la muestra, se recomienda que el laboratorio analítico establezca y provea el protocolo de muestreo. Aquellos a cargo de los procesos de muestreo, deben aplicar sellos de seguridad, así como seguir los criterios de preservación para garantizar la integridad de la muestra durante la transportación.

En algunos países, diferentes departamentos de gobierno son responsables del muestreo de diferentes matrices para cumplir con regulaciones específicas nacionales ó internacionales. Ej. para la importación/exportación de mercaderías de alimentos. En los países donde existen regulaciones, es designado por el gobierno del país, un equipo de trabajo calificado para realizar el muestreo. En otros países, pueden no estar establecidos procedimientos para el muestreo.

2.2 Transporte y Almacenamiento

El PNO también incluye los requisitos para el transporte y el almacenamiento. Más específicamente, estos son:

- Transporte y condiciones de almacenamiento para cada muestra matriz, incluyendo infraestructura y facilidades adecuadas para ser proveídas en la actualidad. Ej. congeladores;
- Preservación de la integridad de las muestras durante el transporte (temperatura, luz, *etc.*).
- Provisiones para almacenamiento adecuado. Estas condiciones son dependientes del analito y la matriz, pero en general, las siguientes condiciones y tiempos son propuestos:
 - Agua: Refrigerar a +4 °C
 - Biota y sólidos: Refrigerar a -20 °C; posiblemente a -80 °C cuando se considere necesario).
- El almacenamiento adecuado también incluye:
 - Registro del comportamiento de los refrigeradores y congeladores, Ej. registro y control de temperatura;

- Disponibilidad de equipo automático de suministro de energía en casos de cortes de energía;
- Los tiempos de almacenamiento recomendados son:
 - ~ 2 semanas en el caso de extracción,
 - 40 días para el análisis y varios años para almacenar las muestras;
- Preservación de muestras individuales para sus re-análisis.
- Pretratamiento analítico de la muestra: criterios estadísticos para obtener submuestras y muestras compósitas (agrupamientos) que son representativas, homogenización de sólidos y tejidos.

Nota: Puede haber requisitos para envíos a ser orientados y respetados. Especialmente en el caso de un envío internacional, deben ser tomadas en cuenta las consideraciones para el transporte y aclaración de aduanas, dada la existencia de restricciones

2.3 Análisis

Para información sobre consideraciones metodológicas generales, entre otras, la información es ofrecida en el documento guía como fue establecido para el Plan Mundial de Monitoreo (UNEP 2007).

Los pasos claves a ser considerados son:

- Procedimientos y criterios de aceptación para la manipulación y preparación de la muestra en el laboratorio (Ej. homogenización);
- Los procedimientos normalizados AC/CC deben ser seguidos por el laboratorio;
- Participación en estudios internacionales de intercalibración. Son esenciales análisis de materiales de referencia certificados.

2.3.1 Organización e Infraestructura

Los análisis de COP pueden ser ejecutados sobre una amplia variedad de matrices y las concentraciones en las muestras pueden diferir a través de muchos ordenes de magnitud; Ej. *BPC* en aceites de transformadores en el rango de mg/kg (ppm) hasta a PCDD/PCDF en aire ambiente en el rango de fg/m³ (ppqt) (doce ordenes de magnitud). Los requisitos listados debajo, son considerados indispensables para garantizar la preservación de las muestras; el control de una contaminación cruzada potencial; la normalización de la técnica y la calibración y el buen mantenimiento de los instrumentos. En general, el laboratorio debe estar limpio, seguro y bien organizado y tener un equipo de trabajo adecuadamente entrenado para conducir los análisis. Teniendo implementada las medidas mencionadas arriba, permitirá la acreditación en el mediano plazo. Los requisitos incluyen:

- Las condiciones ambientales generales del laboratorio deben asegurar un espacio suficiente para cada paso del análisis y evitar interferencias entre las muestras individuales. Esto incluye:
 - Separación física de patrones y muestras de acuerdo a su origen (por ejemplo, industrial o ambiental);
 - Concentración esperada de COP (minimizar la contaminación cruzada por separación de muestras altamente contaminadas de muestras de baja contaminación);

- Control de temperatura y provisión de aire acondicionado;
 - Disponibilidad de campanas de extracción;
 - Área de manipulación de productos inflamables;
 - Provisiones para disposición de desechos de laboratorio.
- Asegurar la cadena de custodia de la muestra: verificar la integridad y preservación de las muestras (mantenimiento) en términos de temperatura, contenedores, etiquetas, registro, aquellos responsables de cada etapa, establecimiento de criterios de aceptación (condiciones, así como cantidad de material, de acuerdo al analito y la matriz);
 - Separación de alícuotas: En el caso del análisis complementario (por ejemplo, granulometría) previo a la congelación de la muestra;
 - Selección y validación de métodos de análisis: Utilice un protocolo en el método de validación, de acuerdo al tipo de analito y matriz (selectividad, repetibilidad, habilidad para reproducir, eficiencia de extracción, recuperación, límite de detección, límite de cuantificación, exactitud). La calidad de los disolventes y reactivos (blancos). Material de vidrio limpio (evita contaminación cruzada). Mantenimiento y calibración de equipos auxiliares (estufas, escalas, tubos de ensayo, pipetas, cristalería). Los protocolos y procedimientos deben ser claramente descritos y documentados.

2.3.2 Extracción

Existen varios métodos de extracción, los cuales incluyen Soxhlet, EFS, EAS, líquido-líquido, *etc.* Después de la extracción, el extracto será concentrado. Para su realización, la técnica debe ser optimizada para evitar una excesiva pérdida del analito. Típicamente, este paso incluye: evaporación bajo vacío o con nitrógeno (Nota: son esenciales el control de temperatura, flujo de nitrógeno, y vacío). Debe ser evitado el secado completo del extracto.

- Antes o durante la extracción deben ser eliminados el agua, los lípidos, las proteínas y los sulfuros. Esto puede ser realizado por:
 - Eliminación de agua por secado de la muestra con sulfato de sodio o un procedimiento equivalente de secado, aceptablemente demostrado.
 - Eliminación de lípidos con ácido sulfúrico ó permeación en gel después de la extracción.
 - Desnaturalización de proteínas con oxalato.
 - Eliminación de sulfuros con cobre activado ó por permeación con gel después de la extracción.
- La extracción debe ser normalizada con respecto a la normalización de los tiempos de extracción, tipo de disolvente, comportamiento del equipo auxiliar, *etc.*;
- Antes de la extracción, los patrones internos deben ser añadidos para controlar la eficiencia de la extracción;
- Las recuperaciones de los patrones de extracción difieren con la matriz y COP a ser analizados. Basado en las experiencias corrientes (de estudios internacionales de calibración) como regla general:
 - Para BPC y plaguicidas: 80 %-120 % (para BPC tetra y pentaclorinados, pueden ser aceptadas las recuperaciones por debajo de 60 %)

- Para PCDD/PCDF: 50 %-130 % (para PCDD/PCDF hepta y octaclorinados puede ser aceptado 40 % -150 %).

2.3.3 Purificación:

La purificación es realizada para remover las sustancias/materiales interferentes del analito, con el fin de obtener resultados no ambiguos. La purificación debe ser suficientemente eficiente para que la retención cromatográfica no este influenciada por la matriz (especialmente cuando son utilizados patrones internos no marcados ó no esta presente la detección de masa especifica).

La purificación esta siendo ejecutada con varios tipos de adsorbentes con diferentes disolventes, dependiendo de la selectividad, condiciones y flujo de columna. Durante la purificación, se necesitan controlar o mantener los siguientes aspectos:

- Verificación de que el perfil/patrón (cantidades relativas dentro de la muestra) de los analitos esté completamente mantenido en el procedimiento total de purificación. En otras palabras, que sea obtenida una recuperación satisfactoria del patrón/perfil de los analitos en la composición original;
- Un patrón interno es añadido en una concentración señal/ruido a un nivel mínimo de al menos 20/1; con concentraciones fijadas de patrones internos en la muestra para obtener factores adecuados de respuesta;
- Control de la fracción de corte.

2.3.4 Separación

La separación de COP será conducida a través de cromatografía gaseosa con detector de captura electrónica (ECD), detector selectivo de masa (MS) ó si esta disponible, espectrometría de masa de alta resolución (HRMS). En la actualidad, solamente la cromatografía gaseosa de alta resolución (= cromatografía gaseosa capilar) puede alcanzar una separación suficiente. Las columnas empacadas (CG) u otras técnicas de separación, tales como HPLC, no fueron encontradas adecuadas

- En general, tiene que ser seleccionada una fase apropiada de CG y debe ser alcanzada la suficiente separación de los picos para permitir una cuantificación precisa (no pueden ser dados criterios numéricos generales, pero el uso de columnas capilares con longitudes de 30-60 m, diámetros internos de 0.15-0.25 mm, un espesor de película de 0.1-0.3 μm , y helio ó hidrógeno como gas portador, deben asegurar la resolución suficiente) (nota: el hidrógeno no puede ser utilizado conjuntamente con el detector MS);
- Tiene que ser verificada la separación de congéneres y pares de isómeros críticos, Ej. pares de PCB 28 y 31, 118 y 149, *etc.*; en análisis de dioxinas, debe ser chequeada la separación de PCDD/PCDF de los éteres difenilos policlorados (PCDE);
- Identificación:
 - Para ECD (ó mas general, para detectores no MS), la confirmación de picos debe ser ejecutada sobre una segunda columna con diferente polaridad. Alternativamente, pueden ser utilizadas las adiciones de analitos;

- Para detección selectiva de masa (MS) puede ser conveniente, la confirmación de picos sobre una segunda columna con diferente polaridad ;
- Para análisis de BPC y detección ECD, deben ser utilizados un mínimo de dos patrones internos. Uno eluyendo al comienzo y otro al final del cromatograma. También se recomienda utilizar un congénere de BPC que eluya en la mitad del cromatograma. De este modo, se recomiendan los siguientes tres congéneres: BPC # 112, # 155 y # 198. Estos tres congéneres son bastante estables y no son típicamente encontrados en las mezclas comerciales de BPC. Nota: el decaclorobifenil (BPC # 209) no es recomendado porque tiende a precipitar fácilmente en soluciones patrones y debido a los largos tiempos de retención, los picos tienden a ser anchos y tener colas. El BPC # 209, también está identificado en muestras ambientales y pudiera no ser cuantificado si este congénere es seleccionado como un patrón interno.
- Manipulación adecuada y preservación de todos los patrones y materiales de referencia;
- La verificación de condiciones cromatográficas, incluye:
 - Resolución, forma simétrica de los picos
 - Reproducibilidad de los tiempos de retención
 - Pureza de gases
 - Uso de una segunda columna de diferente polaridad como columna de confirmación
 - Verificación del rango lineal del instrumento.
- Calibración
 - Las soluciones patrones deben ser preparadas y almacenadas sobre la base de p/p en vez de p/v (peso/peso en vez de peso/volumen);
 - Curvas de calibración multinivel de al menos 5 puntos;
 - Calibración periódica (por ejemplo 1-2 veces a la semana) y verificación diaria con un patrón de nivel intermedio (define un criterio de exclusión, por ejemplo, ± 10).
 - Calibración del detector: Los límites de detección instrumental del detector selectivo de masa (detector MS) son bajos (1-3) $\text{pg}\cdot\mu\text{l}^{-1}$; para HRMS el límite de detección del instrumento es 0.1-3 $\text{pg}\ \mu\text{l}^{-1}$;
- La relación señal/ruido debe ser igual ó mayor que 3:1;
- Inyección:
 - Asegurar la limpieza y la inercia superficial del inyector (inserte vidrio desactivado, evalúe la actividad con un criterio de aceptación, por ejemplo, para DDE/DDT < 20 %)
 - Verificar la relación split/splitless, flujos y estado de los septum
 - La repetibilidad debe ser asegurada (por ejemplo, criterio < 5 %), y
 - La secuencia de inyección para cada grupo de muestras analizadas es como sigue: blancos, muestra control, duplicados, patrones de verificación;
- Registro y trazabilidad de los servicios y desempeño del equipo.

2.3.5 Identificación

- El tiempo de retención entre la muestra y el patrón interno, debe coincidir ;
- Los criterios de identificación, incluyen:
 - Debe ser realizada la identificación positiva sobre relaciones isotópicas dentro del 20 % del valor teórico (para SIM);

- Para identificación positiva con detector MS, el tiempo de retención del patrón interno identificado con el compuesto nativo debe estar dentro de 3 segundos;
- El tiempo de retención ± 0.2 min para ECD ó un porcentaje especificado del tiempo de retención del patrón interno identificado para detectores MS;
- Se recomienda matriz spikes (o co-inyección) para verificar componentes y chequear la cuantificación;
- Integración: seleccionar el nivel básico y la adecuada relación de integración señal/ruido de acuerdo al tipo de muestra, verificar la forma general del cromatograma, la forma de los picos y verificar manualmente la integración.
- La utilización de bibliotecas de espectrometría de masa es útil (si hay una revisión completa);

Para combinaciones HRGC-ECD, son dadas las siguientes recomendaciones específicas:

- En los inyectores tiene que ser utilizados insertos (liner) desactivados;
- Criterios para el tipo y pureza del gas portador para la columna. Para alcanzar la separación deseada de plaguicidas COP y BPC, el helio comparado con el nitrógeno es una mejor elección. El mejor gas portador para alcanzar la separación requerida es el hidrógeno, pero el mismo tiene algún riesgo de seguridad. Un generador de hidrógeno puede ser considerado, si se establecen todas las precauciones y procedimientos de seguridad;
- Criterios para la pureza del nitrógeno como gas make-up del detector
- Los procedimientos de limpieza de muestras deben ser eficientes para prevenir la contaminación del ECD.

Para combinaciones de detección por HRGC-MS, son dadas las siguientes recomendaciones específicas;

- Helio como gas portador (la única elección);
- En los inyectores tiene que ser utilizados insertos (liner) desactivados;
- Condiciones de vacío de los instrumentos;
- Calibración de masa y afinación de instrumento;
- Criterios de identificación positiva: la relación isotópica debe estar dentro del 15 % del valor teórico.

2.3.6 Cuantificación

Para aspectos generales, por favor, consultar el Documento Guía sobre el Plan Mundial de Monitoreo (UNEP 2007).

En general, la cuantificación del analito debe ser realizada de acuerdo a las metodologías internas normalizadas. Típicamente, para PCDD/PCDF y BPC dioxina tipo se necesitan varios requisitos adicionales. Los siguientes requisitos son considerados indispensables:

- Para preparación y mantenimiento de soluciones patrones y especialmente, bajo condiciones atmosféricas de laboratorio no estables, se recomienda utilizar bases p/p en vez de p/v (peso/peso en vez de peso /volumen);
- Al menos, debe ser añadido al nivel normal de cuantificación, un patrón representativo para el grupo de analitos de COP analizados;
- Para la cuantificación, debe asegurarse que la concentración de los compuestos/analitos esté dentro del rango lineal previamente determinado del detector. (Nota: No necesariamente, cuando la calibración multinivel esté ejecutada);
- Verificación de que la concentración de blancos sea significativamente mas baja que las muestras; recomendación: < 10 veces; y
- Para el pico de interés, el ruido debe estar definido tan cerrado como sea posible;
- Ha sido alcanzada la concentración acordada de reporte;
- Para espectrometría de masa (detectores MS), al menos 10 datos-puntos deben ser muestreados a través de un pico masa para la cuantificación (Nota: Algunos instrumentos lo realizan automáticamente);
- El desempeño a ser alcanzado para cada muestra, debe ser:
 - LD para PCDD/PCDF de al menos 1/5
 - LC de 1/5 para todos los otros COPdel valor regulatorio a ser controlado/ obtener el significado de los resultados;
- Los criterios deben ser establecidos para definir las concentraciones límites superiores e inferiores (véase también □ "
- Definiciones" al final de esta sección);
- El valor de reporte y por lo tanto, el límite de cuantificación debe estar al menos a 1/5 del límite regulatorio o nivel de interés o concentración de línea base (también cubierto bajo sección 2.3.7 "Informe";
- Calibración:
 - Los patrones internos marcados son un valor añadido;
 - Deben ser llevadas a cabo las calibraciones multipuntos;
 - Los chequeos de calibración deben ser realizados diariamente, en conexión con el análisis de una serie de muestras (para grandes corridas de calibración, las tendencias tienen que ser chequeadas durante la corrida).

2.3.7 Reporte

La compilación e informe de datos, junto con el almacenamiento de estos, son los pasos finales del análisis. El formato de informe debe incluir:

- El informe debe ser realizado de acuerdo a la regulación(es);
- El informe tiene que incluir la fecha, nombre de la muestra y descripción (muestreo, *etc.*), método utilizado, el nombre del equipo de trabajo que ha ejecutado el análisis y la firma de la persona a cargo del laboratorio de COP;
- Antes de clarificar el informe, solamente deben ser utilizadas y verificadas las unidades del SI (Sistema Internacional) ;

- Deben ser dadas referencias claras para el material, Ej. peso fresco, materia seca, base lípido;
- Los datos deben ser reportados como "< valor LC " u otro límite, como para requisitos regulatorios (y no como ND);
- Debe ser reportada la eficiencia de recuperación;
- Incertidumbre: Debe estar disponible la información sobre incertidumbres;
- El valor de reporte debe ser al menos 1/5 del límite regulatorio ó nivel de interés ó concentración de línea base (también cubierto bajo Cuantificación);
- La diferencia entre el valor límite superior y el valor límite inferior en el nivel regulatorio debe ser menor al 20 %;
- Los valores reportados no deben ser corregidos por porcentajes de recuperación ya que desde entonces, los métodos internos normalizados lo hacen automáticamente;
- Los criterios deben ser construidos para garantizar que los aspectos de sensibilidad/recuperación no impacten los valores del informe. Debe ser dado un suficiente aseguramiento, para que los límites de reporte utilizados, estén totalmente garantizados;
- Debe demostrarse que el blanco es 10 veces mas bajo que el valor que es reportado. Los valores de reporte no deben ser corregidos por los blancos del laboratorio. (Nota: Pueden haber altas fluctuaciones para blancos de laboratorios, Ej. para BPC # 118). La manipulación de todos los blancos necesita documentación escrita. En el caso de altos blancos de laboratorio, la justificación y manipulación de tales casos, debe ser claramente indicada en el PNO.

2.3.8 Definiciones

- Los límites de detección y cuantificación son definidos como sigue:
 - LD debe ser al menos señal/ruido = 3
 - LC debe ser 2 - 3 veces el LD
- Un ejemplo de definición específica para una regulación particular, es la regulación europea de alimentos (CE 2002) con la siguiente definición: señal: ruido 6:1 ó 9:1;
- En el contexto de los valores límites regulatorios ó para concentraciones medidas del informe, no hay una regla general de como tratar los resultados por debajo de LC. Muy frecuentemente, las regulaciones ó leyes definen la manera de reportar los resultados. Para reportar, las siguientes definiciones deben ser tomadas en cuenta:
 - Límite inferior: Picos no cuantificables son fijados a cero
 - Límite superior: LC completo incluido en presentación de resultados
- Existen dos métodos disponibles para proveer información sobre incertidumbres:
 - Cuantificación de incertidumbres para cada etapa
 - Incertidumbre general derivada de los resultados inter e intralaboratorios

2.4 Aspectos Importantes a Considerar en lo Adelante

2.4.1 Mantenimiento de Equipos

El mantenimiento del equipo analítico es considerado uno de los aspectos más importantes en el análisis de COP. Es muy costoso tener contratos de servicio para todos los mantenimientos y por lo tanto es importante entrenar al personal de laboratorio para realizar el mantenimiento básico, cuando los resultados AC/CC son inaceptables.

Los laboratorios deben realizar arreglos para desarrollar entrenamiento propio, incluyendo el mantenimiento básico, cuando los nuevos equipos son instalados en los laboratorios.

2.4.2 Entrenamiento del Equipo de Trabajo del Laboratorio

Los recursos humanos son cruciales para cualquier trabajo analítico. Los siguientes problemas específicos necesitan ser dirigidos y resueltos:

- La falta de personal especializado de laboratorio para conducir el trabajo analítico, fue identificado como uno de los problemas críticos;
- Los requisitos de entrenamiento. Existen dos niveles de entrenamiento:
 - Entrenamiento de personas para seguir los procedimientos analíticos y reportar los resultados;
 - Entrenamiento de personas para realizar corrección de anomalías y conducir el mantenimiento necesario cuando fracasa el criterio AC/CC;
- Los países con personal experimentado deben asistir a otros países en el entrenamiento del personal de laboratorio;
- Existe en la región una necesidad de desarrollar cursos y talleres de entrenamiento anuales para la transferencia de tecnología y el know-how.
- Aunque es difícil estimar, alrededor del 20 % del tiempo a consumir en el análisis, debe ser dedicado a AC/CC.

2.4.3 Acondicionamiento

Para laboratorios de COP hay ciertos requisitos para el acondicionamiento. Estos incluyen:

- Condiciones ambientales adecuadas (la humedad es el factor más crítico) para análisis instrumental pero también para la preparación de muestras;
- Minimización de la vibración;
- Control de temperatura para el gas portador Helio, utilizado con ECD;
- En ciertas ubicaciones, el aire de entrada tiene que ser limpiado (de polvo, BPC, naftaleno);
- Ventilación OHS;
- Debe ser garantizada la disposición ambientalmente segura de desechos de laboratorio y muestras altamente contaminadas.

3 REFERENCIAS

EC (2002): Commission Directive 2002/69/EC of 26 July 2002 laying down the sampling methods and the methods of analysis for the official control of dioxins and the determination of dioxin-like PCBs in foodstuffs. Official Journal of the European Communities, L 209/5-L 209/14 (dated 6.8.2002)

OECD (1998): OECD Environmental Health and Safety Publications; Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring. No. 1: OECD Principles of Good Laboratory Practice (as revised in 1997). Environment Directorate Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris 1998

SBC (2006): General technical guidelines for the environmentally sound management of wastes consisting of, containing or contaminated with persistent organic pollutants (POPs), Draft unedited Version: 7 April 2006. For download:

<http://www.basel.int/techmatters/index.html>

SC COP-2 (2006): Decision SC-2/13 on effectiveness evaluation. Meeting report for download at http://www.pops.int/documents/meetings/cop_2/report/default.htm

SSC (2006): Expert Group on BAT and BEP - Inter-sessional work: Draft guidelines on best available techniques and provisional guidance on best environmental practices relevant to Article 5 and Annex C of the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. For download:

http://www.pops.int/documents/batbep_advance/intersessional_work/draft_guide.htm

UNEP (2007): Draft Guidance on the Global Monitoring Plan for Persistent Organic Pollutants. UNEP, February 2007

UNEP/GEF (2005): for download: <http://www.chem.unep.ch/pops/laboratory/workshops.htm>

- 5-9 Sep 2005: Regional Workshop for GRULAC Region, Montevideo, Uruguay, 5-9 September 2005 (en inglés y español)
- Regional Workshop for Africa Region, Pretoria, South Africa, 4-6 October 2005 (en inglés)
- Regional Workshop for Asia and CEE Regions, Beijing, P.R. China, 13-16 Dec 2005 (en inglés)