



Documentación

NTP 547: Evaluación de riesgos por agentes químicos. El método analítico: aspectos básicos

Évaluation des risques par agents chimiques. Le méthode analytique: Concepts basiques
Risk assessment of chemicals. Analytic method: Basic aspects

Redactor:

Antonio Martí Veciana
Ldo. en Ciencias Químicas y Farmacia
CENTRO NACIONAL DE CONDICIONES DE TRABAJO

Esta Nota Técnica de Prevención tiene como objetivo principal proporcionar a los técnicos de prevención la información básica de que deben disponer para poder interpretar adecuadamente los métodos analíticos destinados a la determinación de contaminantes en aire y en otras matrices con fines de evaluación de riesgos por exposición a agentes químicos, control ambiental y control biológico en los ambientes laborales.

Introducción

Esta Nota Técnica de Prevención se basa en los distintos documentos que sobre el método analítico ha elaborado el INSHT: la Guía interna para la redacción normalizada de métodos analíticos preparada por el Programa Nacional de Normalización de Métodos Analíticos del INSHT [1] y los distintos protocolos de validación de métodos analíticos [2][3][4][5].

El método analítico

El método analítico se define como el conjunto ordenado de operaciones, o procedimiento de trabajo, que permite obtener respuesta a un requerimiento analítico específico, tal como determinar la presencia o concentración de un agente químico en el aire o en una matriz concreta.

En el método analítico, cuando la toma de muestras es necesaria, se diferencian básicamente tres partes:

- la toma de muestras, en donde se indica cuál es el procedimiento que se debe seguir para obtener las muestras,
- el transporte y almacenamiento, en donde se indican las precauciones y recomendaciones para evitar alteraciones de las muestras una vez obtenidas, y
- el procedimiento analítico, que describe el tratamiento a aplicar a las muestras en el laboratorio.

El método analítico para evaluar la exposición a agentes químicos queda definido,

básicamente, por:

- la sustancia (o sustancias) concreta(s) que determina(n). Por ejemplo: determinación de vapores orgánicos.
- la matriz (aire, producto o materia prima, sangre, orina, etc.). Por ejemplo: aire.
- el sistema de toma de muestra (activo/pasivo, soporte de captación, etc.). Por ejemplo: adsorción en carbón activo.
- la técnica analítica que utiliza. Por ejemplo: método por cromatografía de gases.

Características básicas del método analítico

El técnico de prevención, que debe proceder a la elección del método analítico más adecuado a las condiciones de exposición a evaluar, debe conocer cuáles son sus características técnicas básicas, así como también el significado y alcance de las mismas, que se resumen brevemente a continuación, indicándose, en su caso, la fuente bibliográfica de su procedencia:

Selectividad/Especificidad

Capacidad de un método analítico para determinar únicamente los componentes que se pretende medir [2][3][4][5]. Grado de independencia del método frente a las interferencias [9]. Un método que es perfectamente selectivo para un analito o grupo de analitos se le denomina específico.

Sensibilidad

Pendiente de la recta de calibración que se obtiene cuando el resultado (o señal) de la medida o una función de la misma se representa frente a la cantidad o concentración de analito [2][3][4][5]. Es la capacidad de un método analítico para registrar ligeras variaciones de la concentración.

Exactitud

Grado de concordancia entre el valor real y el valor observado [Guía ISO 30, 3.5]. Grado de concordancia entre el resultado de una medición y el valor de referencia aceptado [12].

Sesgo

Desviación o diferencia de los resultados obtenidos aplicando un procedimiento de medida con respecto al valor aceptado como referencia o valor verdadero. El sesgo es una expresión de inexactitud del método y representa un error sistemático total [2][3][4][5]. Desviación significativa y sistemática de un proceso de medida respecto del valor verdadero de la concentración de un agente químico en el aire [9].

Precisión

Grado de concordancia entre los resultados obtenidos aplicando el método repetidas veces, bajo condiciones determinadas. La precisión sólo depende de la distribución de errores aleatorios [2][3][4][5][9].

Repetibilidad (r)

Grado de concordancia entre resultados sucesivos con el mismo método sobre una materia idéntica sometida al ensayo, en las mismas condiciones (mismo operador, mismo aparato, mismo laboratorio y en corto intervalo de tiempo). Es el valor por debajo del cual está situado, con una determinada probabilidad (generalmente del 95%), el valor absoluto de la diferencia entre dos resultados individuales obtenidos en las condiciones anteriormente expuestas [2][3][4][5].

Reproducibilidad

(R) Grado de concordancia entre dos resultados individuales obtenidos con el mismo método sobre una materia idéntica sometida al ensayo, pero en condiciones diferentes (operadores distintos, aparatos diferentes, distintos laboratorios y/o épocas diferentes). Es el valor por debajo del cual está situado, con una probabilidad especificada (generalmente del 95%), el valor absoluto de la diferencia entre dos resultados individuales obtenidos en las condiciones anteriormente expuestas [2][3][4][5].

Intervalo de medida específico

Intervalo de concentraciones para las cuales el sesgo y la precisión de un procedimiento de medida están dentro de los límites especificados [2][3][4][5]. Conjunto de valores para los que la incertidumbre global de un procedimiento de medición se sitúa entre los límites especificados [9].

Linealidad

Relación entre la concentración de analito y la respuesta del método [11]. Es la capacidad de un método analítico de obtener resultados linealmente proporcionales a la concentración de analito en la muestra, dentro de un margen de concentración determinado.

Límite de detección

La menor cantidad de analito que puede ser detectada y diferenciada de una muestra en blanco, pero no necesariamente cuantificada con un nivel aceptable de exactitud y precisión [2][3][4][5]. Es la menor concentración de un analito, que se puede distinguir (o discernir) de una muestra en blanco con una confianza razonable [American Chemical Society: 1983]. Existen distintos procedimientos para su determinación, por lo que es conveniente indicar cual ha sido el utilizado.

Límite de cuantificación

Cantidad o concentración mínima que puede determinarse con un nivel aceptable de exactitud y precisión, bajo las condiciones experimentales establecidas [2][3][4][5][12].

Incertidumbre de medida

Estimación que caracteriza el intervalo de valores en el que se sitúa generalmente con una probabilidad determinada, el valor verdadero de la magnitud medida. La incertidumbre de la medida incluye, en general, varios componentes. Algunos pueden estimarse a partir de la distribución estadística de los resultados de una serie de mediciones y pueden

caracterizarse por la desviación típica muestra*j*. Las estimaciones de los otros componentes solamente pueden basarse en la experiencia o en otras informaciones [2][3][4][5][UNE-EN-30012-1,3.7:94].

Incertidumbre global

Cantidad utilizada para caracterizar, como un todo, la incertidumbre del resultado dado por un equipo o un procedimiento de medida [2][3][4][5][9]. Está expresada, en porcentaje, por una combinación del sesgo y de la precisión, generalmente con la fórmula:

$$\frac{|\bar{x} - x_{ref}| + 2s}{x_{ref}} 100$$

Esta fórmula está aceptada, entre otros, en el campo de la higiene ocupacional, aunque en el estricto sentido matemático no hay ninguna vía posible para combinar la precisión (una varianza) y el sesgo (un número absoluto). En ella:

\bar{x} es el valor medio de los resultados de un número n de mediciones.

x_{ref} es el valor de referencia aceptado o verdadero. s es la desviación típica de las n mediciones.

Para determinar la incertidumbre global de un procedimiento de medida, es necesario llevar a cabo mediciones repetidas bajo condiciones definidas (determinaciones por el mismo analista, en el mismo laboratorio y repitiendo el procedimiento el mismo día). El número mínimo de mediciones repetidas para un conjunto dado de condiciones es normalmente de seis. Como exigencia mínima, la incertidumbre global relativa debe determinarse a las concentraciones correspondientes a los límites inferior y superior del intervalo de medida y al menos a otra concentración intermedia [9]. Para los procedimientos de medida constituidos por varias etapas independientes (preparación del equipo de muestreo, toma de muestras, transporte y almacenamiento de las muestras, análisis), puede ser más conveniente, ensayar individualmente las etapas independientes del procedimiento. En este caso la incertidumbre global relativa del procedimiento completo deberá calcularse mediante una combinación apropiada de las incertidumbres de todas las etapas independientes [9].

Robustez

Evalúa la influencia de pequeños cambios en las condiciones analíticas sobre la fiabilidad del método analítico. La solidez o robustez de un método es determinada introduciendo pequeños cambios en el método (por ejemplo, en las condiciones analíticas) y examinando las consecuencias (factores que originan las fluctuaciones o influencias sobre la señal analítica).

Validación

Confirmación mediante el examen y la aparición de evidencias objetivas de que los requisitos particulares para un uso específico se han cumplido [UNE-EN-ISO 8402,2.18.95].

Estructura y contenido del método analítico

La estructura del método analítico puede variar en función del laboratorio que lo ha desarrollado y del protocolo de validación seguido; sin embargo, existen una serie de apartados básicos que son comunes o similares en la mayoría de métodos analíticos que se aplican o utilizan en la evaluación de riesgos por agentes químicos.

La Entidad Nacional Acreditadora (ENAC) en su documento Guía para los laboratorios que realizan Validaciones de Métodos de Análisis Químicos [12] indica la información mínima que debería contener el método o procedimiento de ensayo y la desglosa en los siguientes términos: Alcance, Referencias, General, y Desarrollo (medios necesarios, muestreo, tratamiento de muestras, prescripciones previas, operaciones de análisis, cálculos y expresión de resultados, y criterios de aceptación de resultados). No obstante, la estructura general y la forma de presentación de la información (número de apartados, nombres de los mismos, orden, etc.) los deja libres para cada laboratorio.

Se expone a continuación la estructura que el INSHT tiene establecido para sus métodos de toma de muestras y análisis. En cada uno los capítulos o apartados que la componen se incluye detalladamente el tipo de información o contenido que el técnico de prevención o usuario del método podrá encontrar o consultar en cualquiera de los métodos de la colección publicados [7].

Título

Contiene el nombre del compuesto o compuestos a analizar, la matriz, el tipo genérico de método de que se trata y la técnica empleada en el análisis.

Presentación

Contiene información relativa a los sectores industriales implicados en la utilización del contaminante objeto del método, justificación del interés en el propio método, legislación relativa al tema o implicaciones legales para las que la determinación analítica tiene interés y calificación del método según las categorías establecidas.

Introducción (opcional)

Se emplea cuando es necesario incluir informaciones especiales que afectan al método.

Objeto y campo de aplicación

Contiene aquella información que permite hacer un juicio rápido sobre si el método es aplicable o no al análisis concreto considerado. Indica a qué compuestos es aplicable el método y dentro de qué límites puede ser utilizado sin efectuar modificaciones. En muestras ambientales se indica, además del intervalo de concentración en la muestra, el correspondiente a las concentraciones en aire, supuesto un volumen de aire muestreado.

En este apartado también se indican las interferencias de otras sustancias que pueda presentar el método, así como si puede ofrecerse su resolución.

Definiciones (opcional)

Contiene las definiciones de los términos que aparecen en el texto y cuyo conocimiento se

considere necesario para su completa interpretación.

Fundamento del método

Indica de forma sintetizada las etapas principales del método (toma de muestras, análisis y cálculos), así como los principios básicos o propiedades fisicoquímicas en las que se basa.

Reactivos y productos

Contiene la lista de productos químicos, disoluciones preparadas y patrones de calibración, así como información detalladas de su preparación.

Los reactivos y productos necesarios para la aplicación del método deben tener especificados sus características (por ejemplo: concentración) y las precauciones para su almacenamiento y el tiempo de conservación. Asimismo, deben incluir lo recogido en la Legislación española, en cuanto a información sobre su peligrosidad (**Real Decreto 1078/1993** (B.O.E. 9.9.93) "Reglamento sobre clasificación, envasado y etiquetado de preparados peligrosos" y el R.D. 363/1995 (B.O.E. 5.6.1995) "Reglamento sobre notificación de sustancias nuevas y clasificación, envasado y etiquetado de sustancias peligrosas" y las actualizaciones posteriores). Deben contener los pictogramas e indicaciones de peligro, y las frases R (naturaleza de los riesgos específicos atribuidos a las sustancias y preparados peligrosas) y frases S (consejos de prudencia relativos a las sustancias y preparados peligrosos).

Aparatos y material

Describe de forma sucinta los aparatos para la toma de muestra, en el caso de métodos ambientales, así como los aparatos utilizados para desarrollar el procedimiento analítico. Cuando se considera necesario también se describen las características específicas o los requisitos que deben cumplir los aparatos.

Toma de muestra

Describe el procedimiento que debe seguirse para obtener las muestras que posteriormente serán analizadas, incluyendo las indicaciones relativas a la masa o volumen de muestra, caudal de aire (cuando se requiera una bomba de muestreo), o tiempo recomendado de muestreo (cuando se utilice un monitor pasivo) y las características del soporte (especificaciones) y las condiciones de transporte y conservación de las muestras.

Procedimiento de análisis

Detalla las distintas etapas o pasos del procedimiento completo, pudiéndose dividir en tantos apartados como operaciones: limpieza del material (sí se requiere algún tratamiento especial), procedimiento de preparación de blancos, muestras y patrones, calibración, determinación, etc.

Se indican las posibilidades de riesgo durante la aplicación del procedimiento (por ejemplo: salpicaduras, explosión, etc.), aconsejando la adopción de medidas de protección, mediante una nota informativa con la indicación de ATENCIÓN, PRECAUCIÓN u otra similar.

Cálculos

Comprenden las operaciones matemáticas, transformaciones y correcciones de cualquier tipo que haya que efectuar desde que se obtiene la lectura de la señal en el instrumento de análisis correspondiente hasta que se ofrece el resultado final del análisis.

Precisión

Se describen las características del método obtenidas en el proceso de validación: precisión, exactitud, intervalo de trabajo, límite de detección. Estos valores son determinantes para poder decidir si el método se ajusta o no a nuestros requerimientos analíticos.

Cuando se citen datos experimentales sobre precisión, exactitud, etc. es perceptivo indicar en qué condiciones han sido obtenidos y si se trata de datos recogidos de la bibliografía se cita la fuente bibliográfica.

Bibliografía

Recoge la bibliografía básica y directa consultada y estudiada para el desarrollo del método. De cada cita bibliográfica se indica la información siguiente: apellidos e iniciales del nombre del autor o autores, título del artículo o libro, nombre de la publicación, volumen, número, páginas, año.

Anexos y Tablas

Cuando se considera necesario pueden incluir anexos o tablas (por ejemplo: las tablas de los datos obtenidos en las experiencias llevadas a cabo para el desarrollo del método).

Validación de métodos analíticos

La validación de un procedimiento de medida establece, mediante estudios sistemáticos de laboratorio, que las características de dicho procedimiento cumplen las especificaciones relativas al uso previsto de resultados analíticos. El proceso de validación permite el conocimiento de las características de funcionamiento del método y proporciona un alto grado de confianza en el mismo y en los resultados obtenidos al aplicarlo.

En los protocolos de validación, que el INSHT dispone para la validación de los métodos analíticos [2][3][4][5], están recogidas las pruebas intralaboratorio y las pruebas interlaboratorio que se establecen en dichos procesos de validación.

Las pruebas intralaboratorio para la validación, básicamente, incluyen:

- selección del método analítico, en donde se estudian factores, tales como: selectividad, sensibilidad, linealidad, etc.
- establecimiento de las condiciones de muestreo, tales como: medio de captación y tiempo de muestreo.
- selección del procedimiento analítico, como por ejemplo procedimiento de desorción, determinación de la eficacia de desorción, etc.
- condiciones de muestreo y análisis, tales como: influencia de la concentración, tiempo de muestreo, humedad, estabilidad y conservación de las muestras, etc.

Las pruebas interlaboratorios a que se someten los métodos analíticos una vez han superado los requisitos de las pruebas intralaboratorio son básicamente para determinar su repetibilidad y reproducibilidad.

El desarrollo de estas pruebas se apoya en un número mínimo de laboratorios participantes (ocho), en un número mínimo de niveles de concentración (dos) y en un número de muestras por nivel de concentración (superior a dos e inferior a seis).

Informe analítico

Los resultados de los análisis que el laboratorio ha llevado a cabo deben estar registrados con precisión, claridad, inequívocamente y sin ambigüedades y presentados como un informe analítico, que incluya toda la información solicitada y necesaria para la interpretación de los resultados, así como la información requerida acerca del método o procedimiento analítico usado.

Estructura del informe La información que incluya el informe analítico debe estar de acuerdo con lo establecido en la Norma UNE-EN ISO/IEC 17025 "Requisitos generales relativos a la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración" [10] e incluir, como mínimo, la información siguiente, a menos que el laboratorio tenga razones válidas para no hacerlo:

- título (por ejemplo: «Informe del Análisis de ...»);
- nombre y dirección de laboratorio;
- identificación única del informe analítico;
- nombre y dirección del cliente o solicitante;
- identificación del método usado;
- descripción e identificación inconfundible de las muestras analizadas;
- fecha de recepción de la muestra(s), donde sea crítica para la validez y aplicación de los resultados, y la fecha o fechas de ejecución del análisis;
- resultados de los análisis con, donde sea apropiado, las unidades de medición;
- nombre(s), función(s) y firma(s) de la persona(s) autorizada para firmar el informe analítico;
- una declaración al efecto de que el resultado sólo sea relacionado con la muestra analizada (Nota: es recomendable que el laboratorio incluya una declaración que especifique que el informe no será reproducido excepto íntegramente, sin la aprobación escrita del laboratorio).

Además de los requisitos listados anteriormente, los informes deben incluir, en donde sea necesario para la interpretación de los resultados analíticos, lo siguiente:

- desviaciones, adiciones o exclusiones del método analítico, e información sobre condiciones específicas del análisis, tales como condiciones medioambientales;

- donde sea pertinente, una declaración de conformidad o no conformidad con requisitos y/o especificaciones;
- donde sea aplicable, una declaración de la incertidumbre estimada de la medición;
- donde sean apropiadas y necesarias las opiniones e interpretaciones (el laboratorio debe documentar en que basa o fundamenta las mismas).

Cuando el informe emitido corresponda a la ejecución completa del método analítico, o sea a la toma de muestras y al procedimiento analítico, además de los requisitos anteriormente listados, los informes incluirán, donde sea necesario para la interpretación de los resultados:

- fecha del muestreo;
- identificación inconfundible de la sustancia, material o producto muestreado;
- la localización del muestreo, incluyendo diagramas, croquis o fotografías;
- una referencia del plan o procedimiento de muestreo usado;
- detalles de cualquier condición medioambiental durante el muestreo que pudiera afectar la interpretación de los resultados del análisis;
- cualquier norma u otra especificación del método o procedimiento de muestreo, y desviaciones, adiciones o exclusiones de la especificación implicada.

Modificaciones del informe

Las rectificaciones materiales a un informe después de su emisión solo deben hacerse en forma de otro documento, o transferencia de datos, con inclusión de la declaración: «Suplemento al Informe de ... número [u otra identificación]», o una forma equivalente de redacción. Cuando se necesite emitir por completo un nuevo informe, éste deberá identificarse de modo inconfundible y contener una referencia al original que reemplaza.

Bibliografía

1. INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD E HIGIENE EN EL TRABAJO
Guía para la redacción normalizada de métodos analíticos
Programa Nacional de Normalización de Métodos Analíticos. Documento interno CT/542/03-94, mayo 1994.
2. INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD E HIGIENE EN EL TRABAJO
Protocolo de validación para la determinación de gases y vapores orgánicos en aire mediante su captación en un adsorbente sólido utilizando un sistema activo
INSHT, MTAIPV-1(2)/98.
3. INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD E HIGIENE EN EL TRABAJO.
Protocolo de validación para la determinación de gases y vapores orgánicos en aire mediante su captación en muestreadores pasivos por difusión
INSHT, MTAIPV-11(2)/98.
4. INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD E HIGIENE EN EL TRABAJO

Protocolo de validación para la determinación en muestras biológicas (sangre y orina) de interés en Higiene Industrial
INSHT, MTAIPV-III(2)/98.

5. INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD E HIGIENE EN EL TRABAJO
Protocolo de validación para la determinación vapores orgánicos en aire exhalado mediante su captación en un adsorbente sólido
INSHT, MTA/PV-1V(2)198.
6. INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD E HIGIENE EN EL TRABAJO
Métodos de toma de muestras y análisis
INSHT, 1992.
7. INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD E HIGIENE EN EL TRABAJO.
Análisis de contaminantes químicos en aire. Colección de Métodos de Toma de muestras y Análisis
INSHT, Madrid, 1977- (46 métodos).
8. INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD E HIGIENE EN EL TRABAJO
Control ambiental y biológico. Guía para la toma de muestras y análisis
INSHT, Ayudas Informáticas para la Prevención, AIP.011.
9. NORMA UNE-EN 482:1995
Requisitos generales relativos al funcionamiento de los procedimientos para la medición de agentes químicos.
10. NORMA UNE-EN ISO/IEC 17025:2000
Requisitos generales relativos a la competencia de los Laboratorios de Ensayo y Calibración.
11. ENAC. C-CSQ-01 Rev. 1, abril 94
Guía para la acreditación de laboratorios que realizan ensayos químicos.
12. ENAC. C-CSQ-02 Rev. 0, octubre 96
Guía para los laboratorios que realizan validaciones de métodos de análisis químicos.
13. GILLES REVOIL
Aseguramiento de la Calidad en los Laboratorios de Análisis y de Ensayos.
AENOR, 1997.