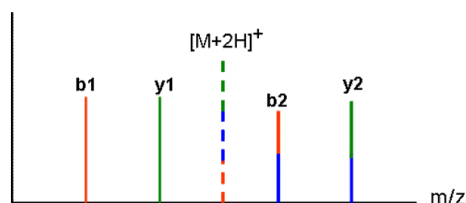


TEMA 1. INTRODUCCIÓN A LAS TÉCNICAS INSTRUMENTALES

*El Proceso Analítico. Clasificación de las Técnicas Instrumentales.
La Medida*

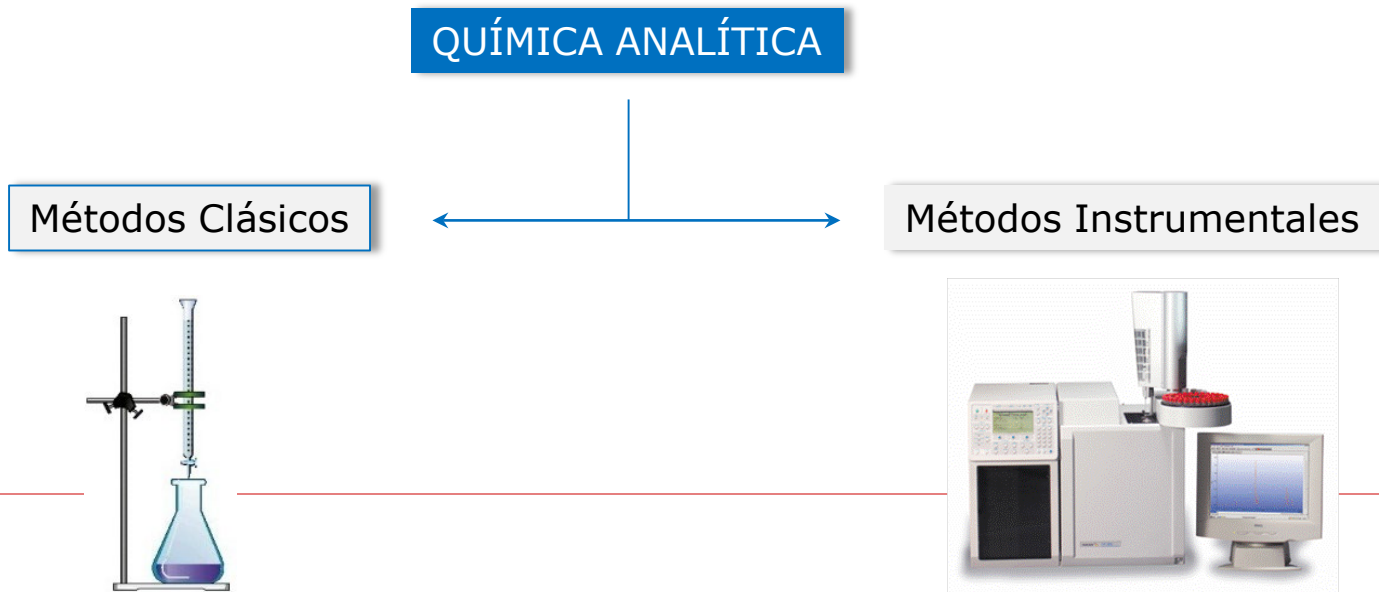


MÉTODOS ANALÍTICOS

Método Analítico

Secuencia fija de acciones que se llevan a cabo con objeto de determinar cualitativa o cuantitativamente una especie química en una muestra determinada.

*Los métodos que se emplean en la Química Analítica para la caracterización de la materia pueden clasificarse en **Clásicos** e **Instrumentales**.*



MÉTODOS INSTRUMENTALES

*Procedimientos basados en la **medición instrumental** de alguna **propiedad físico-química** de las sustancias que proporciona información sobre su estructura o composición química (**métodos cualitativos**) o que resulta proporcional a la masa o a la concentración de las mismas en el sistema estudiado (**métodos cuantitativos**).*

. Generalmente, requieren de equipos caros y altamente sofisticados, pero que ofrecen resultados imposibles de lograr por otros medios.

. El desarrollo de las técnicas instrumentales ha sido posible gracias al avance tecnológico del siglo XX, viéndose especialmente favorecido por el auge de las industrias electrónica e informática, y se encuentran sometidas a una constante evolución y desarrollo.

Las técnicas instrumentales ofrecen diferentes ventajas



- ✓ **Sensibilidad**
- ✓ **Selectividad**
- ✓ **Automatización**
- ✓ **Reproducibilidad**

CLASIFICACIÓN DE LAS TÉCNICAS INSTRUMENTALES

. Técnicas Espectroscópicas

Se basan en la interacción de la radiación electromagnética con la materia

. Técnicas de Separación

Se basan en el diferente reparto de analitos entre una fase móvil y una fase estacionaria

. Técnicas Electroquímicas

Se fundamentan en la medida de propiedades eléctricas

. Técnicas Biológicas

Se basan en el empleo de enzimas, anticuerpos, fragmentos de ADN, etc.

. Técnicas Radioquímicas

Se emplean medidas de radiactividad

RESEÑA HISTÓRICA DEL ANÁLISIS INSTRUMENTAL

- . Kuster y Gruters $\Rightarrow$ Valoraciones conductimétricas **(1903)**.
 - . Electrodo de vidrio pH **(1930)**.
 - . Durante el primer tercio del siglo **XX** se puso de manifiesto la necesidad de analizar componentes trazas a concentraciones inferiores a 0,01% de muchas muestras y en poco tiempo.
 - . A partir de **1930** se desarrollaron los métodos instrumentales en los países industrializados. U. S. A, Alemania, Inglaterra, etc. Espectrofotómetros UV, IR y emisión. Fluorímetros.
 - . **La II Guerra Mundial** condicionó los avances de la ciencia y en concreto de la Química. El proyecto Manhattan (bomba atómica) impulsó considerablemente los métodos instrumentales.
 - . Las técnicas cromatográficas, espectrometría de masas, RMN **(1950)**
 - . Análisis compuestos inorgánicos a nivel ppm **(1960)**.
 - . El impulso definitivo llegó en la década de los **80** con la informática. Microordenadores para controlar los instrumentos analíticos.
-

ETAPAS DEL PROCESO ANALÍTICO

1. Definición del problema

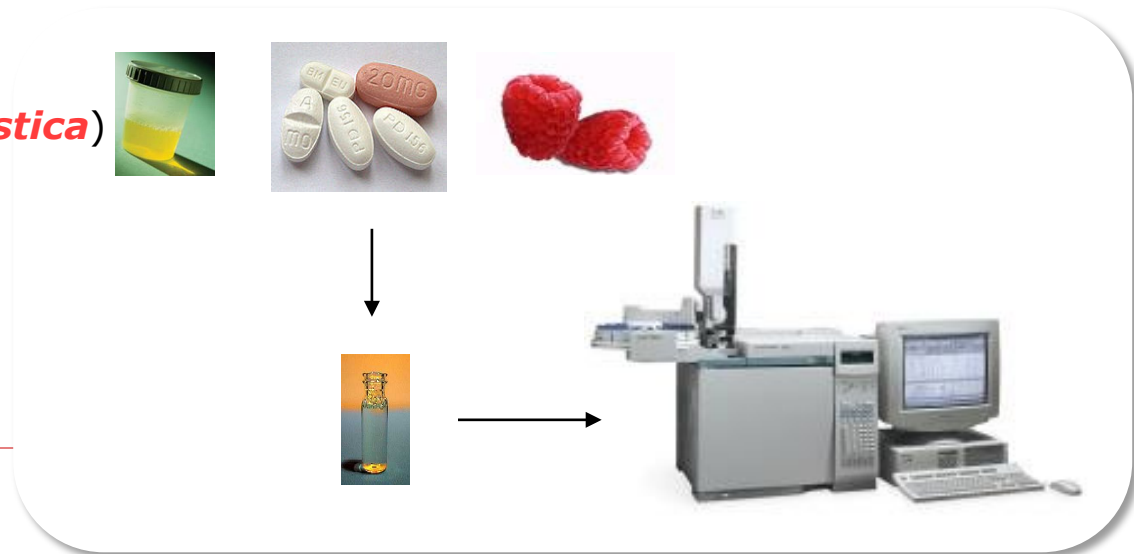
- . Analito y tipo de muestra a analizar: fármaco, muestra biológica, alimento, etc.
- . Análisis cualitativo, análisis cuantitativo

2. Toma y preparación de la muestra

- . Métodos de preparación de muestra: adecuan la muestra a la técnica analítica que se vaya a emplear

3. Análisis propiamente dicho

4. Tratamiento de resultados (*Estadística*)

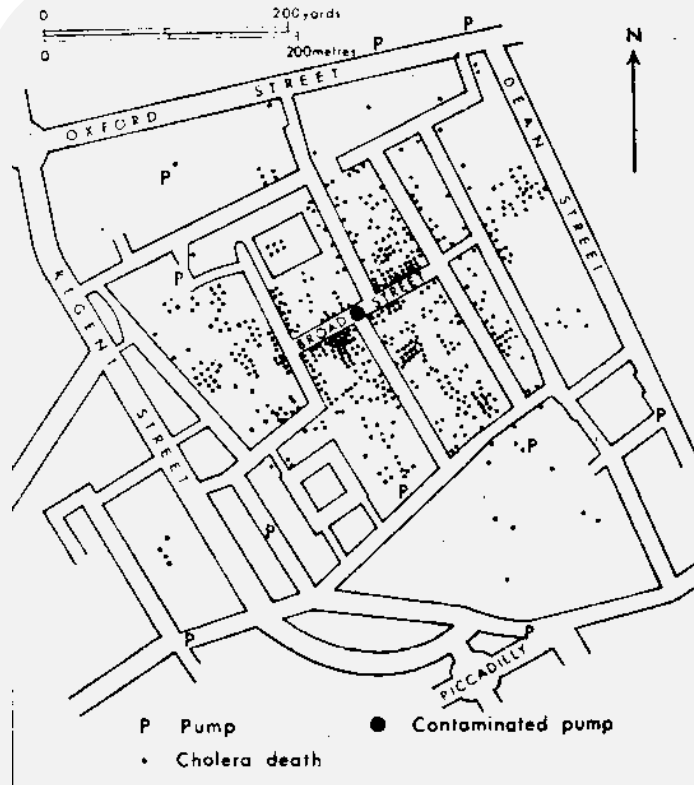


ANÁLISIS ESTADÍSTICO



. La **ESTADÍSTICA** es una ciencia que se encarga de la recogida, análisis e interpretación de los datos para tomar decisiones. La estadística ha sido descrita como la práctica de "torturar a los números para que confiesen".

Sus aplicaciones son múltiples: en la investigación médica, en la biología, en los estudios de mercado, en los análisis sociológicos, en los estudios de fiabilidad industrial, en la gestión de calidad de las empresas en la política y hasta en el deporte.



Caso de epidemia de cólera en Inglaterra 1854. Epidemiólogo John Snow.



<http://www.ph.ucla.edu/epi/snow/broadstreetpumpwomen.htm>

The Broad Street Pump

LA MEDIDA

En un análisis cuantitativo es prácticamente imposible conocer el valor exacto de la magnitud medida ya que es prácticamente imposible realizar un análisis sin que los resultados estén exentos de errores.

En la práctica el problema se reduce a obtener un **valor fiable dentro de ciertos límites**, que van a estar determinados por el uso que se vaya a hacer de ese resultado.

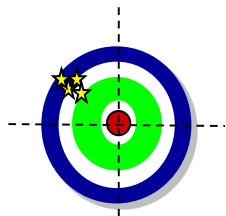
De hecho, cuando se analiza de forma reiterada una misma muestra, los resultados obtenidos rara vez son idénticos. No obstante, el conjunto proporciona un valor central (que suele ser el resultado más probable) y además da una medida de la **incertidumbre** asociada a dicho valor.

INCERTIDUMBRE

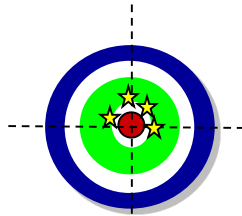
Parámetro que caracteriza el margen de valores dentro del cual se sitúa el *valor verdadero* de una magnitud.

LA MEDIDA

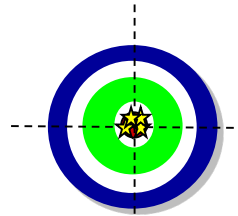
Cuatro personas tiran al blanco como se indica en la figura. Descríbelas en términos de precisión y exactitud



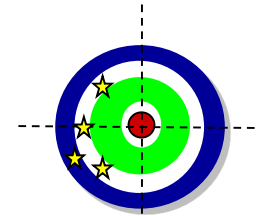
Carlos



Ana



Daniel



María

- . **Precisión:** grado de concordancia mutua entre los datos que se han obtenido de una misma forma
 - . **Exactitud:** grado de concordancia entre la medida experimental y el valor real
-

LA MEDIDA – TIPOS DE ERROR

. **ERROR GRUESO O CRASO:** conducen a resultados discordantes que difieren marcadamente del resto de los datos de una serie repetida. Ocurren ocasionalmente hasta en los laboratorios mejor controlados, son fáciles de detectar y deben ser rechazados.

. **ERROR SISTEMÁTICO O DETERMINADO:** afectan a la exactitud. Tienen un valor definido, una causa asignable y afectan de la misma manera en magnitud y signo a las medidas realizadas. Pueden ser instrumentales, personales o de método.

- . Instrumentales: errores causados por el equipo utilizado. P.ej.: uso de aparatos sin calibrar.

- . Personales: debidos a la falta de habilidad del analista para distinguir o juzgar observaciones con certeza. P.ej.: mala distinción de colores en análisis volumétrico, errores de prejuicio.

- . De método: inherentes al método en sí y tienen su origen en las propiedades físicas y/o químicas del sistema objeto de estudio. Pueden ponerse de manifiesto variando las condiciones de trabajo o realizando el análisis por otro método.

. **ERROR ALEATORIO O INDETERMINADO:** error que va siempre asociado a cualquier tipo de medida. Su presencia queda determinada por la imprecisión (dispersión) de los datos. Su causas, magnitud y signo son al azar. No pueden evitarse, pero pueden minimizarse mediante el empleo de métodos estadísticos.

LA MEDIDA - PRECISIÓN

. **Precisión:** grado de concordancia mutua entre los datos que se han obtenido de una misma forma. La precisión mide el **error aleatorio** de un método.

- . **Repetibilidad del método:** grado de concordancia entre los resultados obtenidos cuando el método es aplicado a la misma muestra repetidas veces por un único analista en un tiempo breve.
- . **Precisión Intermedia:** grado de concordancia entre los resultados obtenidos cuando el método es aplicado a la misma muestra repetidas veces por un único analista en distintos días.
- . **Reproducibilidad:** grado de concordancia entre los resultados obtenidos cuando el método es aplicado a la misma muestra repetidas veces por analistas distintos en laboratorios diferentes y en distintos días.

La precisión del método se expresa como la desviación estándar absoluta (S), la varianza, desviación estándar relativa (RSD) o el coeficiente de variación

LA MEDIDA - PRECISIÓN

DESVIACIÓN ESTÁNDAR ABSOLUTA, SD

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{X})^2}{N - 1}}$$

Es una medida del grado de proximidad de los datos en torno al valor de la media. Cuanto menor es la desviación estándar, más estrechamente se agrupan los datos alrededor de la media.

VARIANZA: S^2

DESVIACIÓN ESTÁNDAR RELATIVA, RSD

$$RSD = \frac{S}{\bar{X}}$$

Para comparar los resultados, SD se expresa de forma relativa. Cuando se expresa en porcentaje se conoce como coeficiente de variación.

COEFICIENTE DE VARIACIÓN, CV

$$CV = \frac{S}{\bar{X}} \times 100\%$$

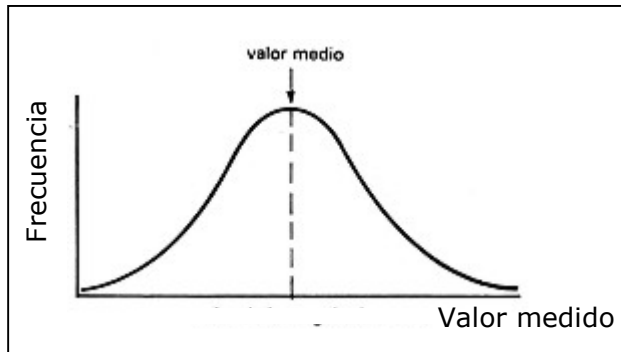
Parámetros de calidad para el tratamiento estadístico del error aleatorio

x_i : valor numérico de la i ésima medida
 $\bar{X}$: media de N medidas
 $N-1$: grados de libertad

LA MEDIDA - PRECISIÓN

Tratamiento estadístico del error aleatorio

Si se repite una experiencia un gran número de veces, y los errores son puramente aleatorios, los resultados tienden a agruparse simétricamente en torno a un valor medio. Decimos que los errores aleatorios se distribuyen de forma gaussiana



Curva gaussiana o curva normal de error

Representación de la frecuencia de aparición de un resultado frente al valor del resultado

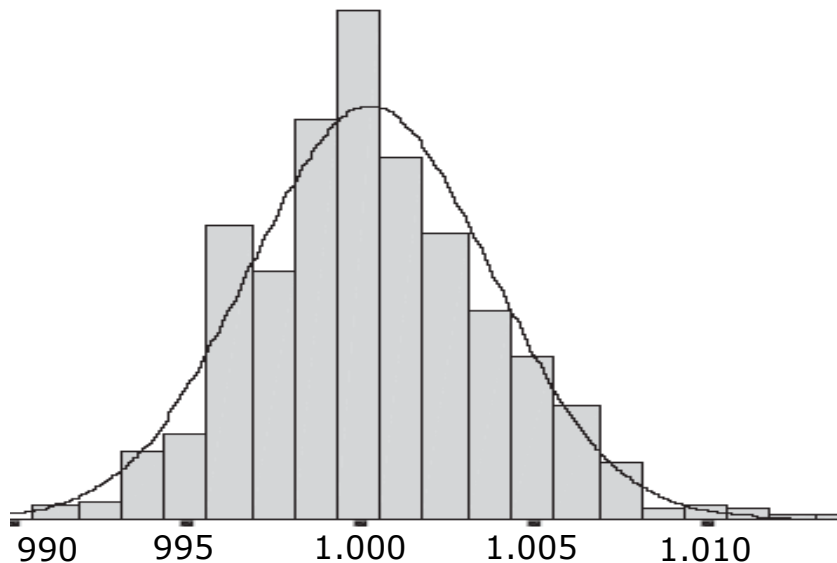
Características de la frecuencia de distribución de resultados:

- . El resultado observado con más frecuencia es la media del conjunto de datos.
- . Los resultados se agrupan simétricamente alrededor de ese valor medio.
- . Las divergencias pequeñas respecto a la media son más frecuentes que las divergencias grandes.
- . En ausencia de error sistemático, la media de un conjunto grande de datos se aproxima al valor verdadero.

El error aleatorio se eliminaría realizando un número muy elevado de medidas, lo que resulta inviable desde el punto de vista práctico. **La forma habitual de trabajo en un laboratorio es realizar de 3 a 5 repeticiones**, de manera que siempre cabe esperar un error aleatorio significativo para el valor de la media de un número pequeño de repeticiones. No obstante, a partir de un pequeño número de medidas es posible estimar el comportamiento estadístico de una serie grande de datos.

LA MEDIDA - PRECISIÓN

Un ejemplo sencillo

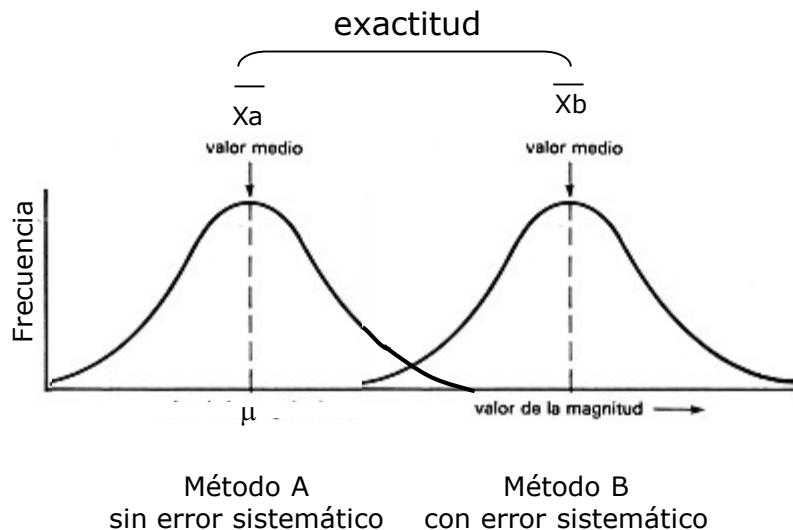


- Los paquetes de azúcar de 1 kg no pesan exactamente 1.000,000 g, sino que unos pesan un poco más y otros un poco menos. Está es una variabilidad inevitable, producida por diferentes causas. La mayoría de los datos están agrupados en torno al valor central, es la típica de forma de la campana de Gauss.



LA MEDIDA - EXACTITUD

. **Exactitud:** grado de concordancia entre la medida experimental ($\bar{X}$) y el valor real (μ). Mide el **error sistemático (determinado)** del método.



Frecuencias de resultados correspondientes a análisis sucesivos (repetición de análisis) de la misma muestra llevados a cabo con dos métodos que tienen errores aleatorios de igual magnitud. El método A está libre de error sistemático, el valor estimado para la media se considera el valor verdadero, μ . El error sistemático del método B será:

. **Error absoluto:** Diferencia que existe entre el valor verdadero de una magnitud y el que se obtiene de una medida experimental del mismo

$$E_a = X_b - \mu$$

. **Error relativo:** porcentaje que representa el E_a frente al valor teórico

$$E_r (\%) = \frac{E_a}{\mu} \times 100$$

Minimización del error sistemático:

- . Validación de métodos: aplicación del método en cuestión al análisis de materiales de referencia certificados.
- . Calibrado: trabajo con patrones preparados en el laboratorio.
- . Realizar "blancos"

Materiales de referencia:

- . NIST: National Institute of Standards and Technology (USA)
- . IRMM: Institute of Reference Materials and Measurements (UE, Bélgica)

LA MEDIDA - EXACTITUD

- . Si bien desde el punto de vista teórico exactitud y precisión son conceptos diferentes, en la práctica no es posible definir la exactitud de un método sin tener en cuenta su precisión.
- . En función de su error relativo, los métodos pueden considerarse en términos generales como
 - . muy exactos : $E_r < 1\%$
 - . moderadamente exactos: E_r 1-5 %
 - . poco exactos: $E_r > 5\%$

No obstante, la exactitud de un método puede ser considerada adecuada o no adecuada en función de:



Dificultad del problema analítico

100 ppb vs 1 ppb



Aplicación buscada



LA MEDIDA – EXACTITUD – NORMAS ISO 5725

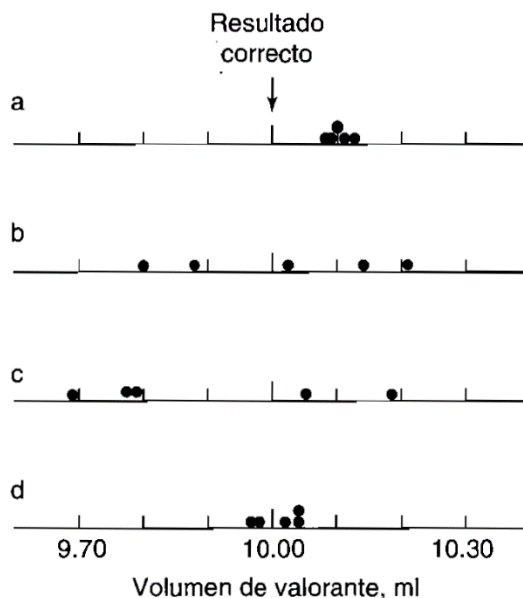
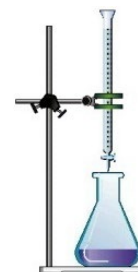
Para un conjunto de mediciones sobre un mismo mesurando

Exactitud = Veracidad + Precisión

↓ ↓
Componente de error Componente de error
sistemático aleatorio

Four students each perform the titration of exactly 10.00 mL of 0.1M NaOH with 0.1M HCl (Veq: 10.00 mL)

Student	Results (mL)					Mean (mL)	Comment
A	10.08	10.11	10.09	10.10	10.12	10.10	Precise, biased
B	9.88	10.14	10.02	9.80	10.21	10.01	Imprecise, unbiased
C	10.19	9.79	9.69	10.05	9.78	9.90	Imprecise, biased
D	10.04	9.98	10.02	9.97	10.04	10.01	Precise, unbiased



Student A: All the results are very close to each other (reproducible). They fall on both sides of the average value (random error). All the results are too high (systematic error)

Student B: The average of the results is very close to the correct value (no bias). The spread of the results is very large (random error)

Random and systematic errors can occur independently of one another

Accuracy has contributions from both error sources

Student B: The average value is very accurate. The inaccuracy of the individual results is due to random error

Student A: inaccuracies of individual and average results are due to systematic error

LA MEDIDA – DETECCIÓN DEL ERROR

Parámetro de la t de Student – Intervalo de confianza

. Intervalo de confianza: intervalo entre cuyos límites podemos asegurar con una probabilidad determinada que se encuentra el valor verdadero

t: parámetro estadístico llamado t de Student, cuyo valor está tabulado en función de los grados de libertad y de la probabilidad o nivel de confianza

Grados de libertad	Nivel de confianza (%)						
	50	90	95	98	99	99,5	99,9
1	1,000	6,314	12,706	31,821	63,657	127,32	636,619
2	0,816	2,920	4,303	6,965	9,925	14,089	31,598
3	0,765	2,353	3,182	4,541	5,841	7,453	12,924
4	0,741	2,132	2,776	3,747	4,604	5,598	8,610
5	0,727	2,015	2,571	3,365	4,032	4,773	6,869
6	0,718	1,943	2,447	3,143	3,707	4,317	5,959
7	0,711	1,895	2,365	2,998	3,500	4,029	5,408
8	0,706	1,860	2,306	2,896	3,355	3,832	5,041
9	0,703	1,833	2,262	2,821	3,250	3,690	4,781
10	0,700	1,812	2,228	2,764	3,169	3,581	4,587
15	0,691	1,753	2,131	2,602	2,947	3,252	4,073
20	0,687	1,725	2,086	2,528	2,845	3,153	3,850
25	0,684	1,708	2,060	2,485	2,787	3,078	3,725
30	0,683	1,697	2,042	2,457	2,750	3,030	3,646
40	0,681	1,684	2,021	2,423	2,704	2,971	3,551
60	0,679	1,671	2,000	2,390	2,660	2,915	3,460
120	0,677	1,658	1,980	2,358	2,617	2,860	3,373
∞	0,674	1,645	1,960	2,326	2,576	2,807	3,291

Valores de la t de Student para diferentes grados de libertad y niveles de confianza
Análisis Químico Cuantitativo. Harris, C. 2007

$$\bar{x} \pm \frac{t s}{\sqrt{N}}$$

Intervalo de Confianza

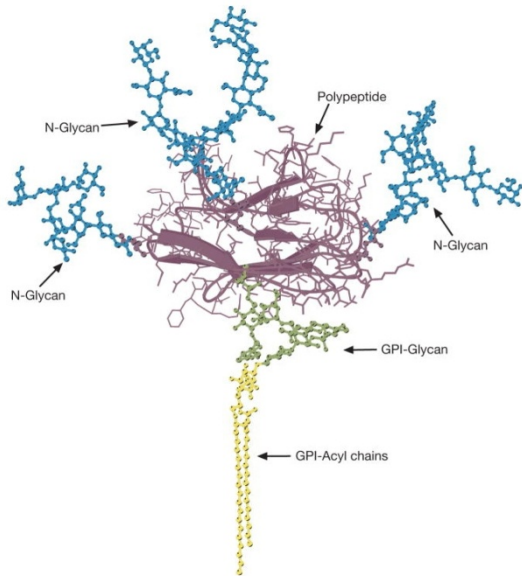
. Indicio de error

Si el valor experimental $\bar{x} - \mu$ es mayor del intervalo calculado, se puede asumir que hay error. Si es menor, no queda demostrada de presencia de un error

$$\bar{x} - \mu > \pm \frac{t s}{\sqrt{N}} \longrightarrow \text{Indicio de error}$$

LA MEDIDA – DETECCIÓN DEL ERROR

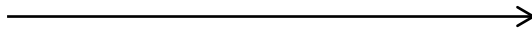
La determinación del contenido de hidratos de carbono en una glicoproteína da los siguientes resultados replicados: 12.6, 11.9, 13.0, 12.7 y 12.5 g de hidratos de carbono por 100 g de proteína. Hallar los intervalos de confianza del 50% y del 90% del contenido hidratos de carbono. Si el valor verdadero fuera de 12.3 g /100g, discute si en ambos casos la diferencia entre dicho dato y el la media experimental es significativa.



LA MEDIDA – RESULTADOS DISCREPANTES

Cuando se realizan repeticiones de un análisis los resultados siguen, generalmente, una distribución Gaussiana. Existe, por tanto, una cierta probabilidad de obtener resultados alejados del valor central pero que forman parte del conjunto de observaciones y, como tales, deben ser considerados en el tratamiento posterior de datos sin necesidad de ser rechazados.

Resultados discrepantes: aquellos que no pertenecen a una población, o que existe una probabilidad inferior a un determinado valor para que pertenezcan a ellas.



¿Cuándo debo rechazarlos?

- . Test Q de Dixon
- . Test de Grubbs

OUTLIERS

LA MEDIDA – RESULTADOS DISCREPANTES

Test Q de Dixon

Se calcula la relación Q dividiendo la diferencia entre el valor sospechoso X_q y el valor más próximo X_{q-1} por la diferencia entre los valores más elevado, X_n y más bajo, X_1 (rango).

Si el valor calculado Q_{cal} es mayor que el valor tabulado, Q_{tab} , se considera que el valor sospechoso es discrepante para el nivel de significancia elegido y se rechaza.

$$Q_{cal} = \frac{|X_q - X_{q-1}|}{X_n - X_1}$$

Se desarrolla un nuevo método en el laboratorio para la determinación de ibuprofeno en comprimidos. Tras analizar 7 comprimidos se obtuvieron los siguientes resultados: 203, 205, 204, 205, 184, 203 y 206 mg ibuprofeno/comprimido. Para un nivel de confianza del 90%, ¿sería posible rechazar el valor de 184 mg ibuprofeno/comprimido?

*Cocientes
de Rechazo [3] de la
Prueba^a Q.*

<i>n</i>	<i>Q_{0.90}</i>
3	0.941
4	0.765
5	0.642
6	0.560
7	0.507
8	0.479
9	0.441
10	0.409

^aSi la Q calculada es $\geq Q_{0.90}$ se rechaza el resultado que se está probando.

LA MEDIDA – RESULTADOS DISCREPANTES

TEST DE GRUBBS

It compares the deviation of the suspect value from the sample mean with the standard deviation of the sample

$$G_{\text{cal}} = \frac{|\text{suspect value} - \bar{x}|}{s}$$

If the calculated value of G exceeds the critical value the suspect value is rejected

Sample size	Critical value (P= 0.05, 95%)
3	1.155
4	1.481
5	1.715
6	1.887
7	2.020
8	2.126
9	2.215
10	2.290

Se desarrolla un nuevo método en el laboratorio para la determinación de ibuprofeno en comprimidos. Tras analizar 7 comprimidos se obtuvieron los siguientes resultados: 203, 205, 204, 205, 184, 203 y 206 mg ibuprofeno/comprimido. Para un nivel de confianza del 90%, ¿sería posible rechazar el valor de 184 mg ibuprofeno/comprimido?

LA MEDIDA – RESULTADOS DISCREPANTES

- . Los resultados de los test estadísticos no son vinculantes
- . Determinar la aceptación o el rechazo de un dato puede tener consecuencias importantes en aspecto como

La emisión de un diagnóstico para un paciente



Determinar si un alimento es apto o no apto para su consumo



La aceptación o rechazo de un lote de fabricación de un producto farmacéutico



LA MEDIDA – PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

As has been pointed out, no quantitative results are of any value unless they are accompanied by some estimate of the errors involved in its measurement.

However, there is no universal convention to do so, and several procedure can be used:

a) Mean as the as the estimate of the quantity measured and the standard deviation
as the estimate of the precision

$$\bar{x} \pm s$$

b) Mean as the as the estimate of the quantity measured and the standard error of
the mean as the estimate of the precision

$$\bar{x} \pm \sigma / \sqrt{n}$$

c) 95% confidence limits of the mean

$$\bar{x} \pm \frac{t s}{\sqrt{N}}$$

**It is essential to state the form
used and value of n!!!!**

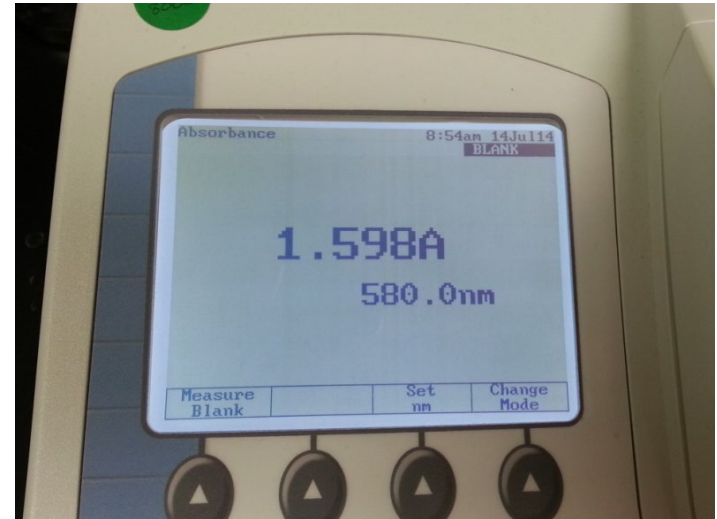
LA MEDIDA – MÉTODOS DE CALIBRADO

Métodos de calibrado

En muchos tipos de análisis químico se mide la respuesta del procedimiento analítico a cantidades conocidas de analito. Basándose en estos datos es posible obtener una **«función de calibrado»** que permite determinar el contenido de analito de una muestra problema a partir de la señal instrumental obtenida (interpolar).

Tipos:

- 1. Patrón Externo**
- 2. Recta de Adiciones / Adición Estándar**
- 3. Patrón Interno**

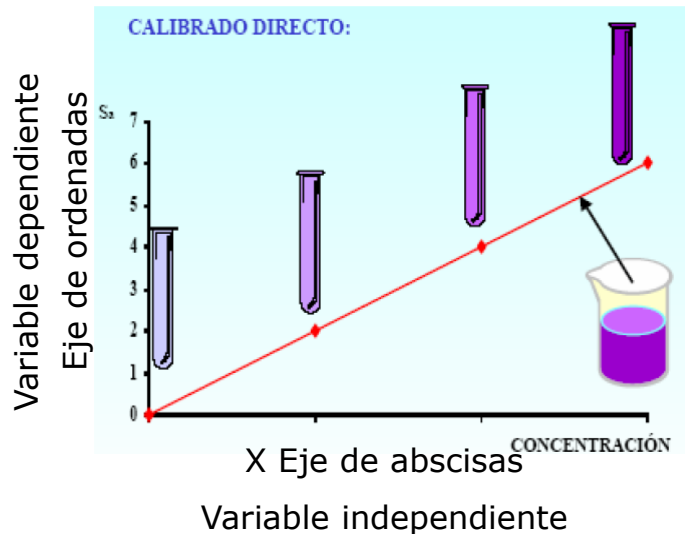


LA MEDIDA – MÉTODOS DE CALIBRADO

1. Patrón Externo

Recta de Calibrado → Método de los Mínimos Cuadrados

Representación de las señales instrumentales obtenidas para la medida de una serie de patrones de concentración conocida



$$y = a + b x$$

r = coeficiente de correlación
 r^2 = coeficiente de regresión

Cuanto más próximo a 1 esté r ,
mejor ajuste de los datos a la
recta

Variable independiente: concentración de los patrones que preparamos

Variable dependiente: valor medido para cada patrón con la técnica instrumental aplicada (señal instrumental)

LA MEDIDA – MÉTODOS DE CALIBRADO

1. Patrón Externo

Recta de Calibrado $\longrightarrow$ Método de los Mínimos Cuadrados

 **Sensibilidad:** mide la capacidad de un método para distinguir pequeñas diferencias en la concentración del analito

Factores que limitan la sensibilidad de un método:

- a) pendiente de la recta de calibrado
- b) precisión

$$y = a + b X$$

y: señal medida

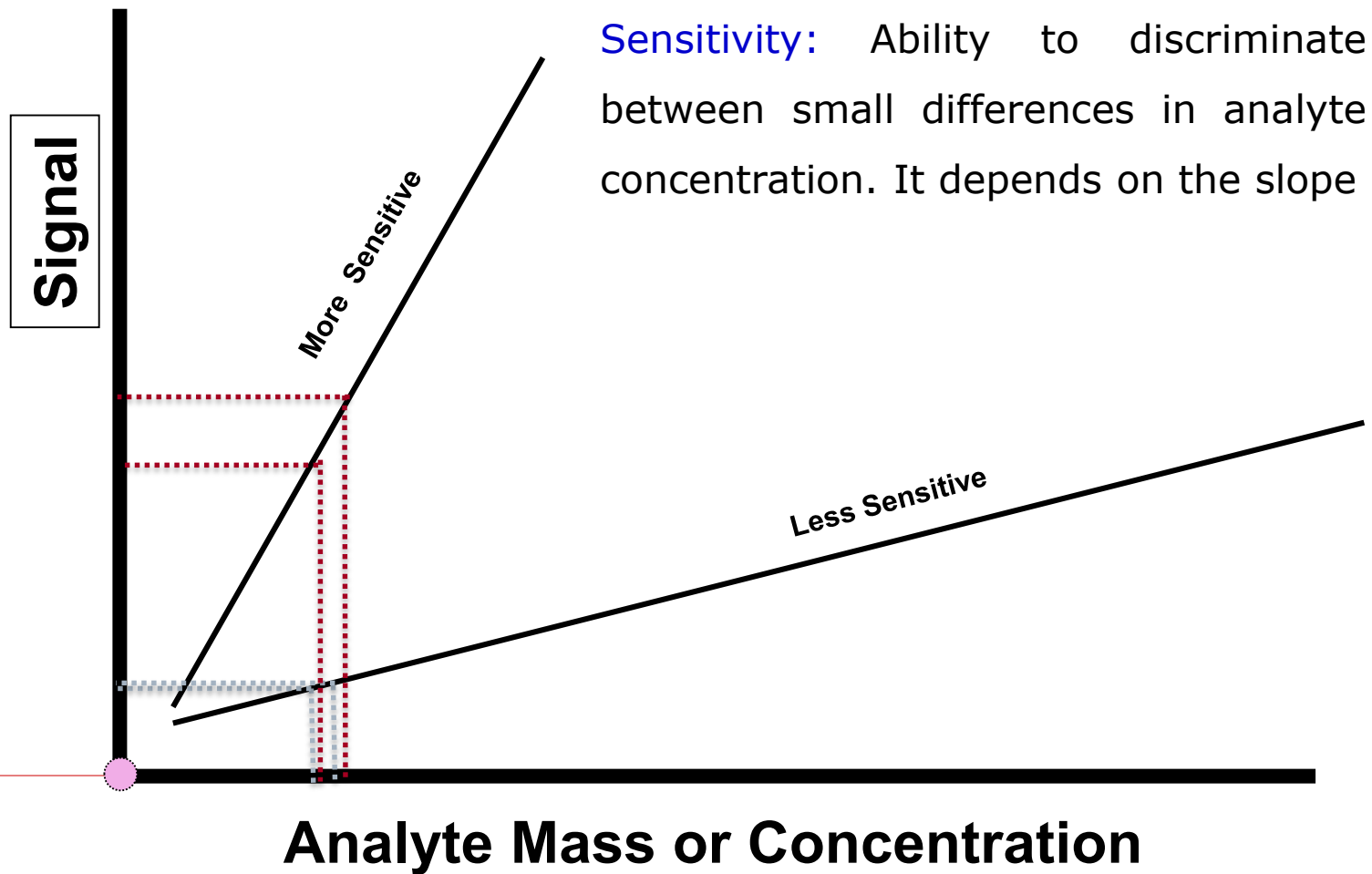
x : concentración del analito

b: pendiente

a: ordenada en $x = 0$ (señal del blanco)

LA MEDIDA – MÉTODOS DE CALIBRADO

1. Patrón Externo



LA MEDIDA – MÉTODOS DE CALIBRADO

1. Patrón Externo

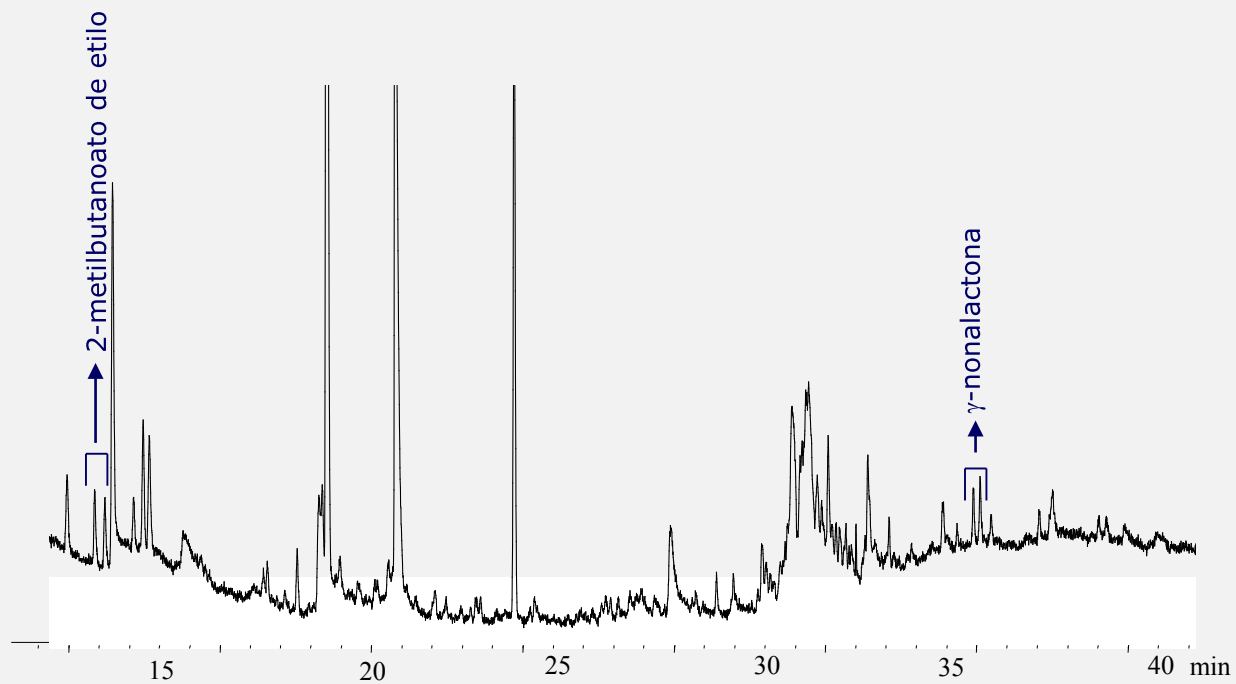
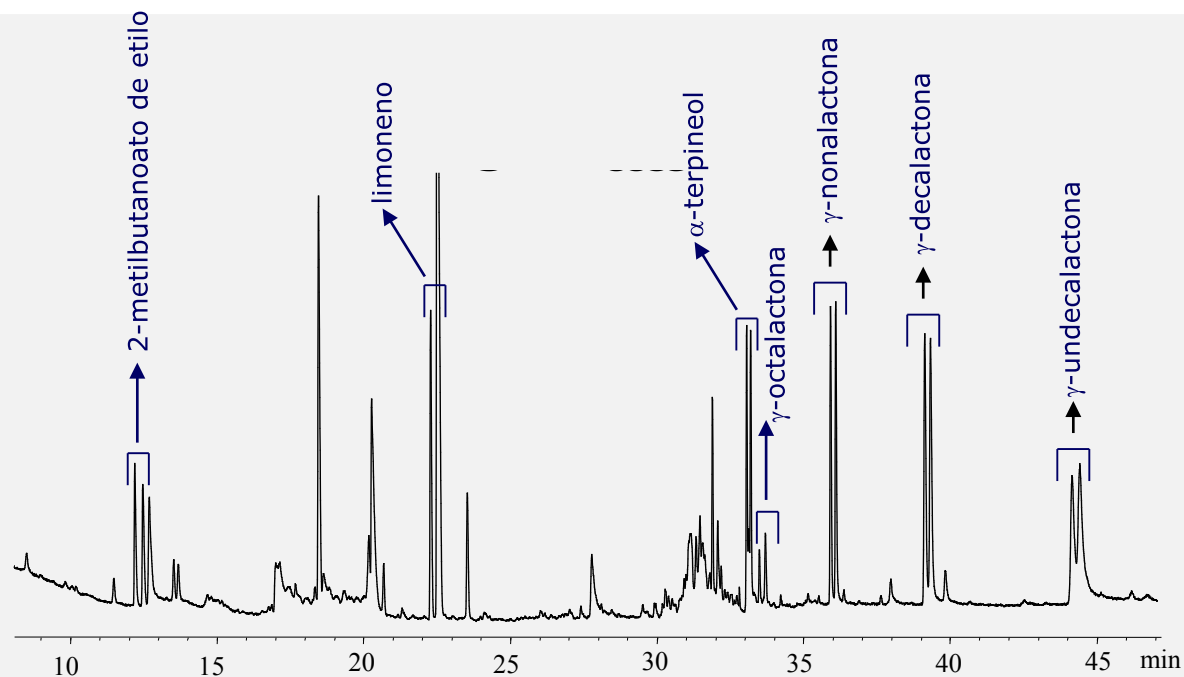
Recta de Calibrado $\longrightarrow$ Método de los Mínimos Cuadrados

 **Límite de detección:** mínima concentración de analito que se puede detectar para un nivel de confianza dado. Es decir, concentración mínima de analito que proporciona una señal en el instrumento que difiere significativamente de la señal del blanco

Una forma de calcular el LD, para un nivel de confianza del 95%, se basa en llevar a cabo 20 30 medidas del blanco y estimar la mínima señal medible (Y_{LD}) como la señal media del blanco más 3 veces la desviación estándar de dicho blanco.

$$Y_{LD} = \bar{y}_{\text{blanco}} + 3 s_{\text{blanco}}$$

Al sustituir el valor de Y_{LD} en la recta de calibrado se obtendrá la concentración correspondiente al límite de detección, X_{LD}



LA MEDIDA – MÉTODOS DE CALIBRADO

1. Patrón Externo

Recta de Calibrado → Método de los Mínimos Cuadrados

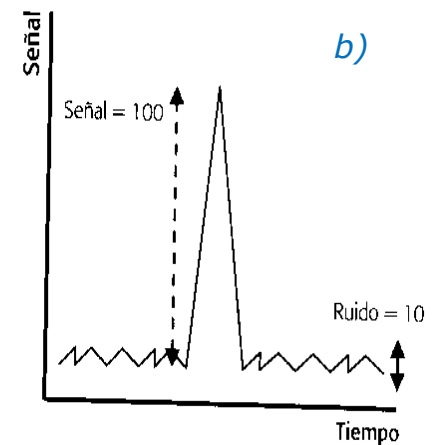
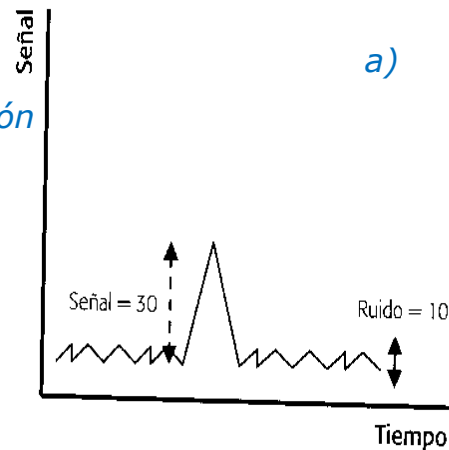
✚ **Límite de cuantificación:** concentración mínima de analito que puede cuantificarse con exactitud y precisión aceptable. Puede estimarse de forma análoga al límite de detección, pero considerando 10 la desviación estándar del blanco

$$Y_{LQ} = \bar{y}_{\text{blanco}} + 10 s_{\text{blanco}}$$

LD y LQ en Cromatografía

Cálculo del ruido de fondo del

a) límite de detección y b) límite de cuantificación

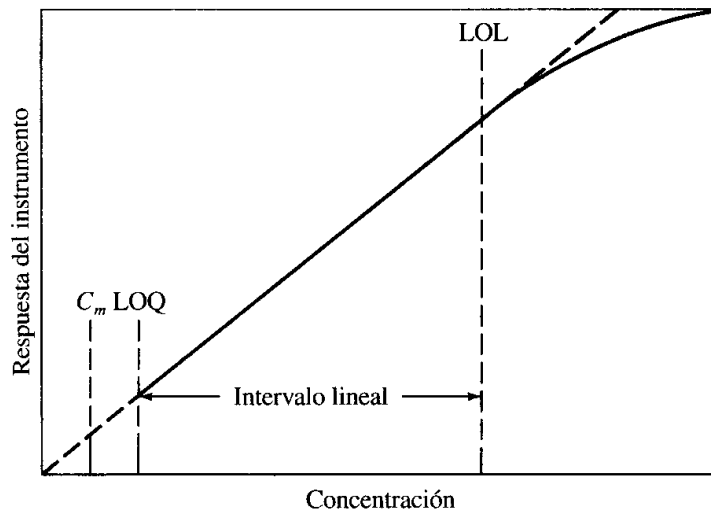


LA MEDIDA – MÉTODOS DE CALIBRADO

1. Patrón Externo

Recta de Calibrado → Método de los Mínimos Cuadrados

-  **Intervalo de linealidad o rango:** intervalo de concentraciones útil para un método analítico en el que la pendiente de la recta obtenida se mantiene constante. Se extiende desde el LQ y el límite de linealidad (LL), punto de a partir del cual la recta se desvía de la linealidad



Para que un método sea aplicable debe tener un rango de, al menos, dos órdenes de magnitud

LA MEDIDA – MÉTODOS DE CALIBRADO

EJEMPLO -1

1. En un método espectroscópico para la determinación de plomo en una serie de muestras se estimó la siguiente recta de calibrado:

$$y = 1,12 c_{pb} + 0.0296$$

y se obtuvieron los siguientes datos analíticos:

Concentración de Pb (ppm)	Nº de repeticiones	$\bar{y}$	s
10,0	10	11,62	0,15
1,00	10	1,120	0,025
0,000	24	0,0296	0,0082

Calcular la sensibilidad de la calibración y el límite de detección

LA MEDIDA – MÉTODOS DE CALIBRADO

EJEMPLO - 2

2. Los siguientes datos de calibración se obtuvieron por medio de un método instrumental para la determinación de la especie x en un solución acuosa

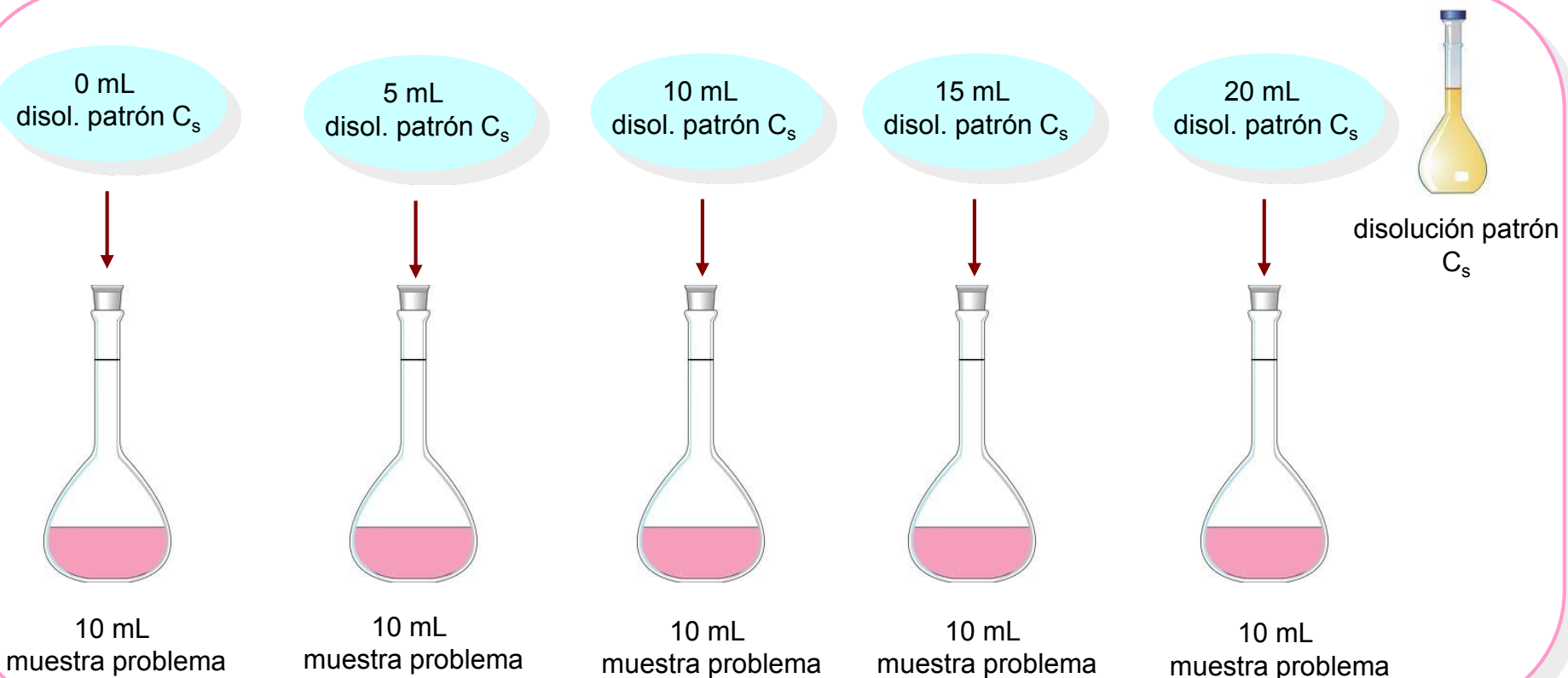
Concentración de x (ppm)	Nº de repeticiones	$\bar{y}$	s
0,00	25	0,031	0,0079
2,00	5	0,173	0,0094
6,00	5	0,422	0,0084
10,00	5	0,702	0,0084
14,00	5	0,956	0,0085
18,00	5	1,248	0,0110

Calcular la sensibilidad de la calibración, el límite de detección del método y el coeficiente de variación para la media de las series de 2 y 14 ppm

LA MEDIDA – MÉTODOS DE CALIBRADO

2. Recta de adiciones. Adición estándar

Este método es aconsejable para minimizar el llamado “efecto matriz”. Con frecuencia la complejidad de las matrices a analizar (alimentos, muestras biológicas, muestras medioambientales, etc.) influye en el resultado del análisis, haciendo que su comportamiento sea difícil de reproducir con patrones.

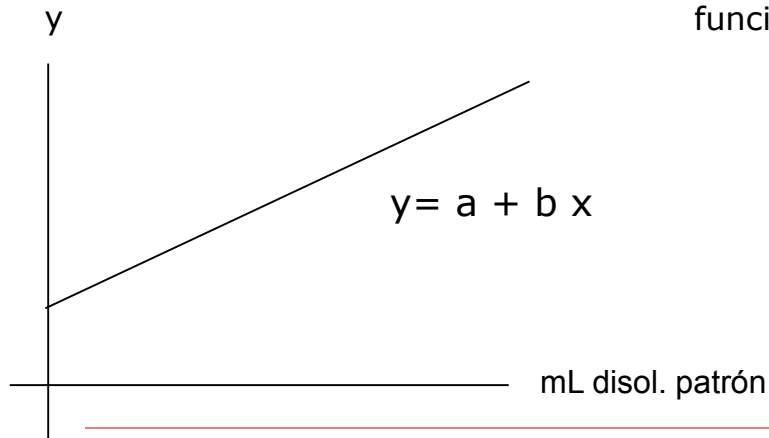


LA MEDIDA – MÉTODOS DE CALIBRADO

Procedimiento:

. A n alícuotas de muestra problema se le añaden cantidades crecientes de una disolución patrón de analito, de concentración conocida C_s . Cada matraz contendrá una concentración de analito que será la suma de la original (la que queremos averiguar) y la añadida.

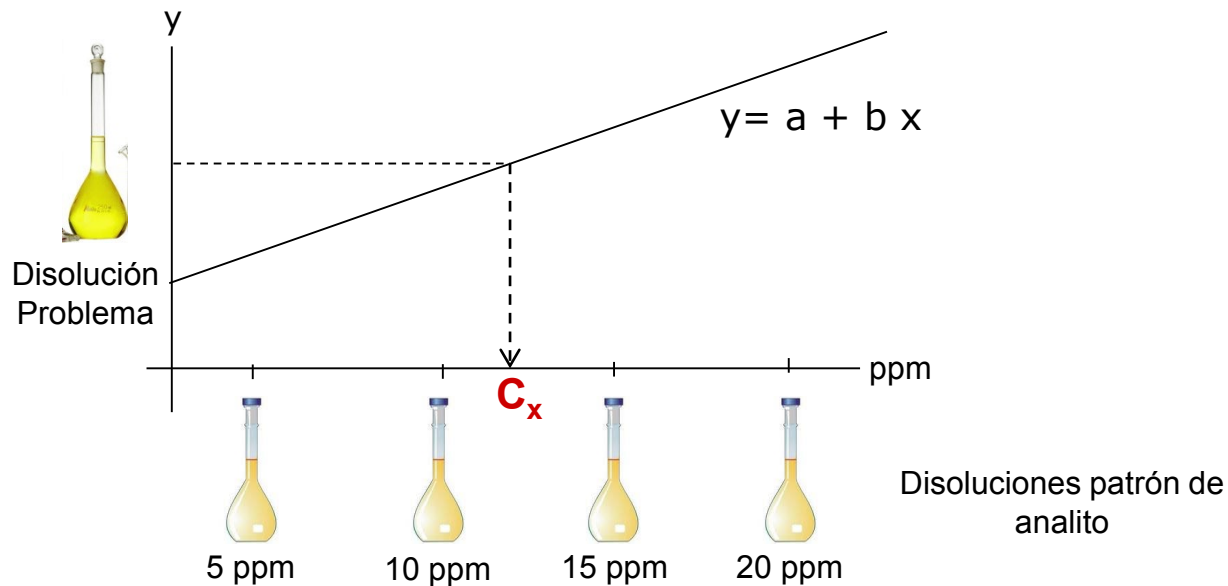
. Se obtiene la recta de calibrado correspondiente representando la señal instrumental frente al volumen de disolución patrón añadido.



. Se calcula la concentración de analito en la muestra problema en función de la expresión:

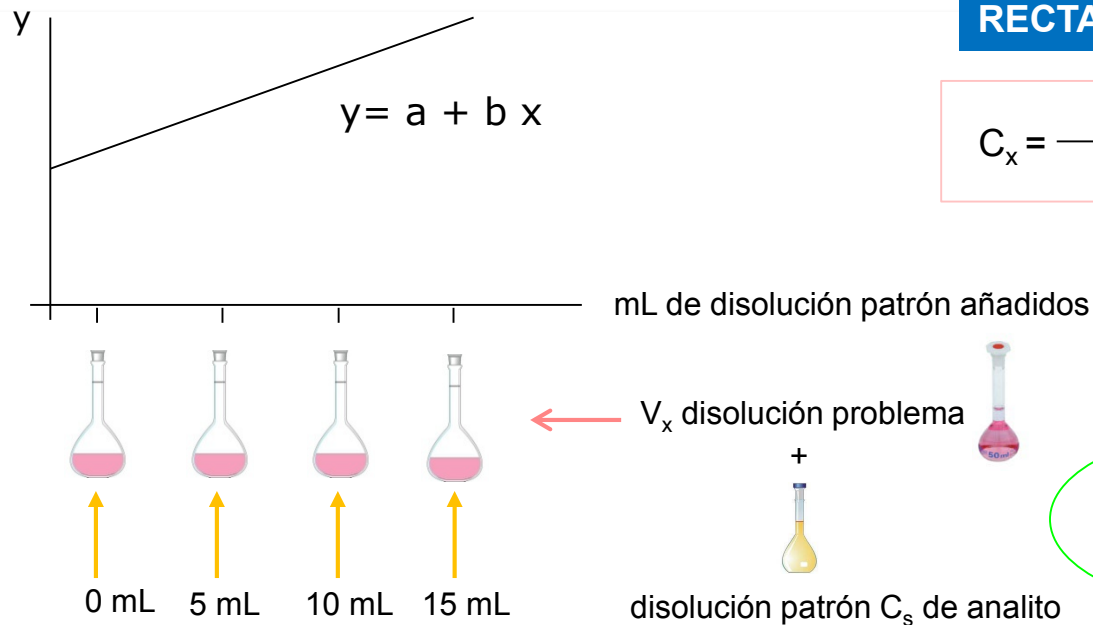
$$C_{\text{analito}} = \frac{a C_s}{b V_{\text{muestra}}}$$

RECTA DE CALIBRADO



C_x : concentración del analito en la muestra problema

RECTA DE ADICIONES



$$C_x = \frac{a C_s}{b V_x}$$

Los patrones incluyen una cantidad conocida de disolución problema

LA MEDIDA – MÉTODOS DE CALIBRADO

EJEMPLO - 3

Se pipetea varias alícuotas de 10 mL de una muestra de un agua mineral en matraces aforados de 50,0 mL. A cada uno se le adicionan exactamente 0.00; 5.00; 10.00; 15.00 y 20.00 mL de una disolución patrón que contiene 11,1 ppm de Fe^{3+} y se enrasan hasta 50 mL. Las absorbancias medidas para las cinco disoluciones fueron 0.240; 0.437; 0.621; 0.809 y 1.009, respectivamente. ¿Qué concentración de Fe^{3+} hay en la muestra de agua?.



LA MEDIDA

. Criterios cuantitativos para seleccionar y evaluar métodos analíticos

CRITERIO	PARÁMETRO DE CALIDAD
1. Precisión	Desviación estándar absoluta, desviación estándar relativa, coeficiente de variación, varianza
2. Exactitud	Error absoluto sistemático, error relativo sistemático
3. Sensibilidad	Pendiente de la recta de calibrado
4. Límite de detección	Blanco más tres veces la desviación estándar del blanco
5. Intervalo de concentración aplicable	Concentración entre el límite de cuantificación y el límite de linealidad

. Criterios cualitativos a tener en cuenta en la elección de un método

Velocidad, facilidad y comodidad, habilidad del operador, coste y disponibilidad del equipo, coste por muestra

TÉRMINOS FUNDAMENTALES

Química analítica: Parte de la Química que desarrolla, optimiza y aplica métodos para obtener información sobre la composición (bio)química de la materia con objeto de resolver problemas analíticos.

Problema analítico: Planteamiento y resolución de la necesidad de información sobre la presencia o cantidad de uno o varios analitos en una muestra.

Método analítico: Secuencia fija de acciones que se llevan a cabo con objeto de determinar cualitativa o cuantitativamente una especie química en una muestra determinada, para lo cual es necesaria la utilización de una técnica analítica específica.

Método validado: Es aquel que ha sido descrito con detalle y sus parámetros de calidad han sido estudiados.

Procedimiento: Son las instrucciones escritas pormenorizadas del método analítico (indican cómo analizar una muestra).

Protocolo: Conjunto de instrucciones escritas para el análisis de una muestra especificadas por un organismo competente y que deben seguirse al pie de la letra si se quiere que la institución que especifica el protocolo acepte los resultados del análisis.

Técnica analítica: Proceso científico fundamental que ha demostrado ser útil para proporcionar información sobre las especies químicas.

Instrumento: Sistema de medida que proporciona información cualitativa o cuantitativa para el analito en la muestra. Es la materialización de una técnica analítica.

Aparato: Sistema que realiza una función en la preparación de la muestra pero que no proporciona información sobre los analitos.

Analito: Es el componente, o especie química, que interesa en una muestra, es decir, el que se va a determinar (identificar o cuantificar).

TÉRMINOS FUNDAMENTALES

Muestra analítica (muestra problema): Es el material objeto de análisis en el que se pretende identificar o cuantificar un determinado analito.

Matriz de la muestra: Es el medio que contiene al analito, es decir, son todas las especies químicas que acompañan al analito en la muestra.

Interferencias: Perturbaciones físicas, químicas o instrumentales que dificultan la determinación cualitativa o cuantitativa del analito en la muestra.

Disolución problema: Disolución que se obtiene después de someter a la muestra a una serie de tratamientos con el fin de prepararla para su análisis mediante una

Reactivo patrón (reactivo estándar): Reactivo de elevada pureza que se obtiene comercialmente.

Disolución patrón (disolución estándar): Disolución que se prepara a partir de un reactivo patrón y de la que se conoce exactamente su concentración.

Blanco analítico (blanco de método, placebo): Muestra que contiene todos los componentes de la matriz excepto el analito y que se somete a todos los pasos del procedimiento analítico.

Blanco de reactivo: Todos los reactivos que se ponen en contacto con la muestra problema durante su preparación.

Material de referencia certificado: Muestra que contiene cantidades conocidas de uno o varios analitos. Estas muestras se suministran con un certificado de composición emitido por un organismo competente.

VALIDACIÓN DE MÉTODOS



Diferentes organismos europeos y americanos recomiendan que los métodos analíticos sean sometidos a estudio o validación a fin de demostrar que los datos obtenidos con dicho métodos son aceptables para el fin que se pretende.

. Food and Drug Administration (FDA); www.fda.gov

La validación de un método es el proceso de demostración experimental y documentada de que un método analítico realiza lo que se espera de él.

En las farmacopeas se pueden encontrar guías de validación establecidas para métodos analíticos aplicados a muestras farmacéuticas.

. Farmacopea Europea;

www.europa.eu/legislation_summaries/internal_market/single_market_for_goods/pharmaceutical_and_cosmetic_products/l21161_es.htm
