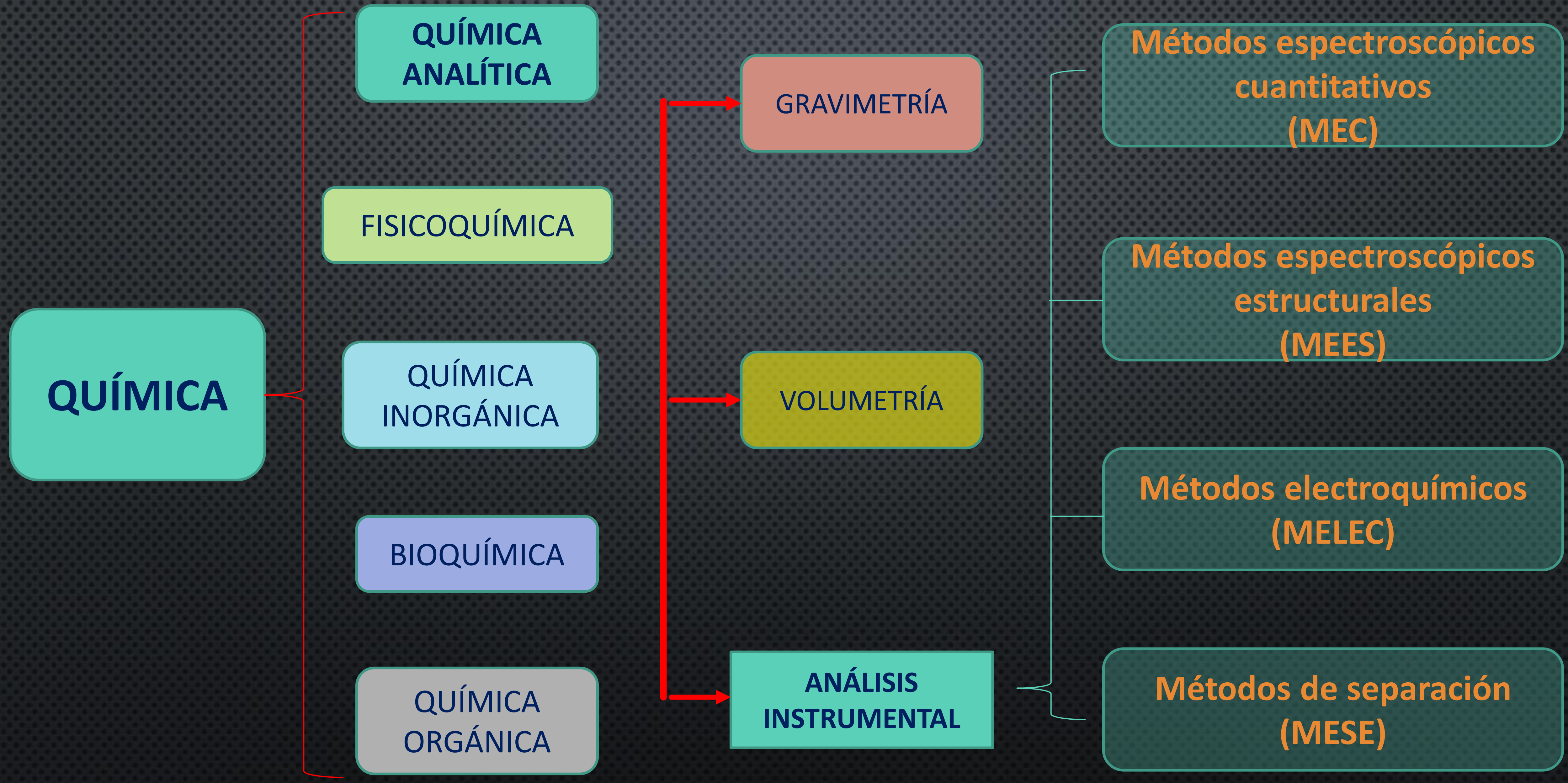
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Química

- Analítica Experimental I
- Profr Joaquín Preza De la Vega

Curvas de calibración en los métodos analíticos

Generalidades en análisis instrumental y curvas patrón.


QUÍMICA
QUÍMICA ANALÍTICA
FISICOQUÍMICA
QUÍMICA INORGÁNICA
BIOQUÍMICA
QUÍMICA ORGÁNICA
GRAVIMETRÍA
VOLUMETRÍA
ANÁLISIS INSTRUMENTAL
Métodos espectroscópicos cuantitativos (MEC)
Métodos espectroscópicos estructurales (MEES)
Métodos electroquímicos (MELEC)
Métodos de separación (MESE)

Si se desea realizar la determinación cualitativa y cuantitativa de un analito mediante análisis instru-mental, debemos asociar una propiedad física del analito que varíe directamente proporcional a la concentración de éste en una muestra dada.

En principio, a partir de la medida de esta propiedad podremos calcular la concentración de analito.

Para poder hacer esto es preciso establecer una relación entre las señales medidas y una serie de patrones de concentración conocida.

Esto es lo que se denomina realizar un **calibrado**.

La relación señal-concentración vendrá dada por una función matemática a partir de la cual se puede interpolar el valor de señal obtenido para una muestra y calcular así la concentración de analito en la misma.

Generalmente se procura que la relación sea lineal, lo que simplifica mucho los cálculos a realizar.

Es por ello que es procedimiento analítico muy utilizado en análisis cuantitativo. A este procedimiento se le llama **curva de calibración**, **curva estándar** o **curva patrón**.

Una curva de calibración es la representación gráfica de una señal (derivada de una propiedad física) que se mide en función de la concentración de un analito.

Supongamos que disponemos de una serie de patrones de concentración $x_1, x_2, \ldots x_i, \ldots x_n$ que, una vez medidos por una determinada técnica presentan señales de respuesta $y_1, y_2, \ldots y_i, \ldots y_n$.

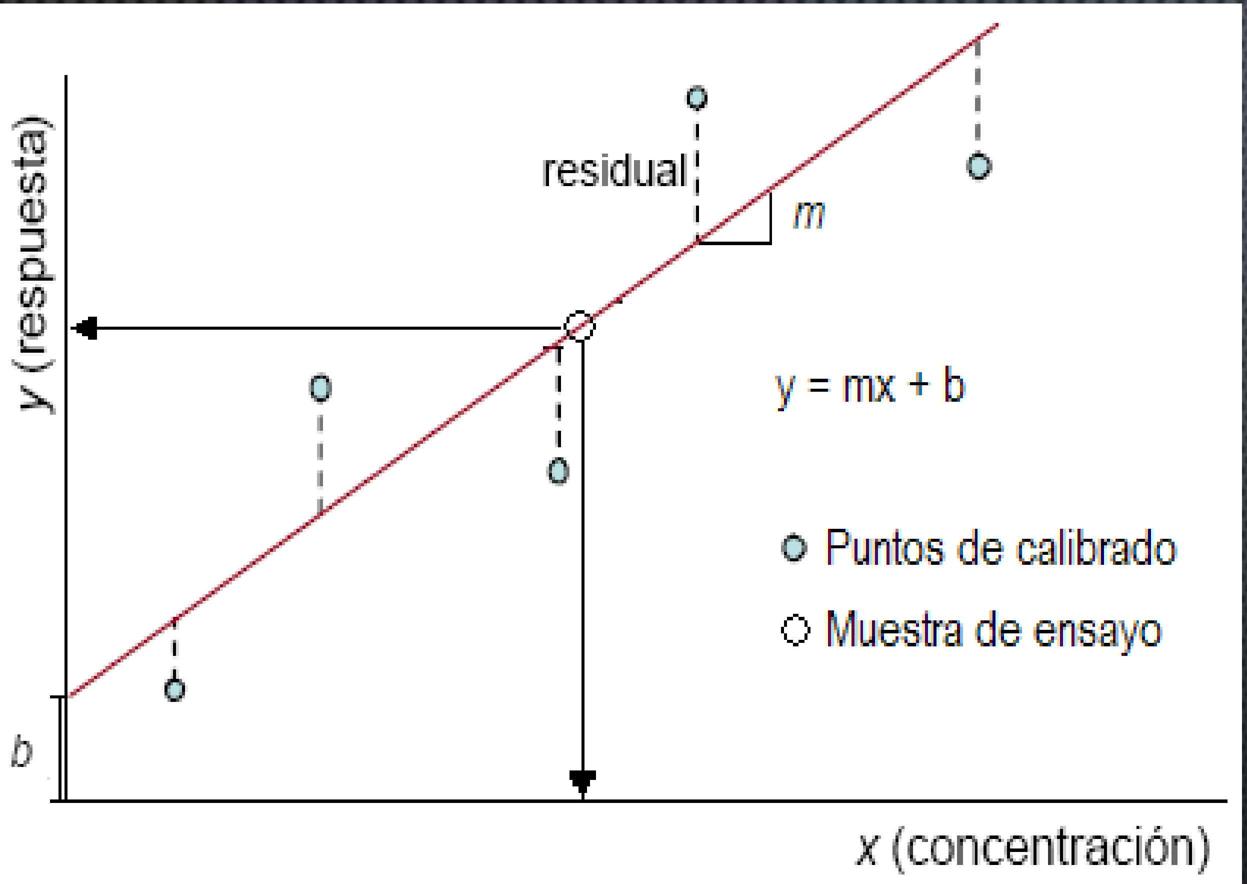


Fig. 1 Curva de calibración con n = 5

Si representamos las señales frente a las concentraciones obtenemos la denominada curva de calibración.

En el caso más sencillo, como ya se ha dicho, tendremos una recta de calibrado de ecuación

y = mx + b.

Donde

m es la pendiente

b la ordenada en el origen.

Cabe mencionar que en la práctica es muy importante efectuar la medida del “blanco”.

Se llaman disoluciones blanco o simplemente blancos a las disoluciones que contienen todos los reactivos y disolventes usados en el análisis, pero sin el analito.

Los blancos miden la respuesta del procedimiento analítico a las impurezas o especies interferentes que existan en los reactivos o, simplemente, a las especiales características del instrumento de medida.

BLANCO

Definido por IUPAC como la lectura resultante originada por la matriz, los reactivos o cualquier otra medida residual debida al instrumento a al proceso de medición, que contribuye al valor obtenido en el proceso analítico para el mensurando.

Es importante señalar que los métodos analíticos son establecidos por instituciones nacionales o internacionales que proporcionan procedimientos y características del método y que concluyen con indicadores de calidad (denominados características del desempeño analítico) que suelen incluir:

Exactitud, precisión, especificidad, además de los parámetros que se determinan a partir de los curvas de calibración.

La exactitud indica la cercanía de la medida entre el valor aceptado y el verdadero y se expresa mediante el error.

La precisión expresa la concordancia entre varios valores obtenidos de la misma manera; con frecuencia es más fácil conocer la precisión que la exactitud porque no siempre se conoce el valor verdadero.

La especificidad requiere que la respuesta del instrumento utilizado sea específica para el analito que se determine y que las condiciones de medida de los estándares y el analito sean iguales.

Independientemente de la técnica instrumental responsable de la señal analítica (cuyas características se estudian en forma particular) los parámetros que se determinan a partir de las curvas de calibración obtenidas con cualquiera de ellas son:

- la linealidad
- la sensibilidad
- el límite de detección
- el límite de cuantificación
- el intervalo analítico

Análisis de cuadrados mínimos para datos correlacionados		
Pendiente	$m = \frac{n\sum_i^n xy - \sum x \sum y}{n\sum x^2 - (\sum x)^2}$	$m = \frac{\sum_i^n\{(x_i - \bar{x})(x_i - \bar{y})\}}{\sum_i^n (x_i - \bar{x})^2}$
Ordenada al origen	$b = \frac{\sum y - m\sum x}{n}$	$b = \bar{y} - m\bar{x}$
Coeficiente de determinacion	$r^2 = \frac{(n\sum_i^n xy - \sum x \sum y)^2}{(n\sum x^2 - (\sum x)^2)\,(n\sum y^2 - (\sum y)^2)}$	$r = \frac{\sum_i^n\{(x_i - \bar{x})(x_i - \bar{y})\}}{\sqrt{[\sum_i^n (x_i - \bar{x})^2][\sum_i^n (y_i - \bar{y})^2]}}$

Usando paqueería office, concretamente hoja de cálculo, los siguientes comandos son de gran utilidad para el tratamiento de datos:

Parámetro o función	Fórmula
Media	=PROMEDIO()
Desviación estándar	=DESVEST()
Varianza	=VAR()
Raíz cuadrada	=RAIZ()
Número de datos	=CONTAR()
Mediana	=MEDIANA()
Pendiente	=PENDIENTE()
Ordenada en el origen	=INTERSECCION.EJE()
Coeficiente de correlación	=COEF.DE.CORREL()
Estimación lineal	=ESTIMACION.LINEAL()

Modelo

Se busca la ecuación de una recta de la forma:

$$y = mx \quad b$$

que minimice la suma de los errores elevados cuadrado.

Medias

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{N} \qquad \bar{y} = \frac{\sum y_i}{N}$$

Sumas de cuadrados (definiciones)

$$S_{xx} = \sum \left(x_i \quad \bar{x}\right)^2$$

$$S_{yy} = \sum \left(y_i \quad \bar{y}\right)^2$$

$$S_{xy} = \sum \left(x_i - \bar{x}\right)\left(y_i - \bar{y}\right)$$

Sumas de cuadrados (fórmulas simplificadas)

$$S_{xx} = \sum x_i^2 \quad \frac{\left(\sum x_i\right)^2}{N}$$

$$S_{yy} = \sum y_i^2 \quad \frac{\left(\sum y_i\right)^2}{N}$$

$$S_{xy} = \sum x_i y_i \quad \frac{\left(\sum x_i\right)\left(\sum y_i\right)}{N}$$

Pendiente e intersección

$$m = \frac{S_{xy}}{S_{xx}} \qquad b = \bar{y} \quad m\bar{x}$$

Coeficiente de correlación

$$R = \frac{S_{xy}}{\sqrt{S_{xx} S_{yy}}}$$

Error estándar

Error estándar alrededor de la línea de regresión:

$$s_r = \sqrt{\frac{S_{yy} - m^2 S_{xx}}{N - 2}}$$

Error estándar de la pendiente y la intersección:

$$s_m = s_r \sqrt{\frac{1}{S_{xx}}} \qquad s_b = s_r \sqrt{\frac{\sum x_i^2}{N S_{xx}}}$$

Error estándar del valor x_c correspondiente a la media $\bar{y}_c$ de un conjunto de M réplicas de un análisis, obtenido empleando una curva de calibración con N puntos:

$$s_c = \frac{s_r}{m} \sqrt{\frac{1}{M} \quad \frac{1}{N} + \frac{\left(\bar{y}_c - \bar{y}\right)^2}{m^2 S_{xx}}}$$

Falta calcular las desviaciones estándar para cada uno de las fuentes de incertidumbre del mensurando

$$\mathrm{Sy} = \sqrt{\frac{\sum_i^n(\mathrm{yi} - \mathrm{mxi} - \mathrm{b})}{\mathrm{n}-2}}$$

$$\mathrm{Sm} = \mathrm{Sy}\sqrt{\frac{\mathrm{N}}{\mathrm{n}\sum_i^n \mathrm{x}_i{}^2 - \left(\sum_i^n \mathrm{x}_i\right)^2}}$$

$$\mathrm{S}_{Ri} = \sqrt{\frac{\sum_i^n(\mathrm{Ri} - \mathrm{FrCi} - \mathrm{b})}{\mathrm{n}-2}}$$

$$\mathrm{S_{Fr}} = \mathrm{S}_{Ri}\sqrt{\frac{\mathrm{N}}{\mathrm{n}\sum_i^n \mathrm{C}_i{}^2 - \left(\sum_i^n \mathrm{C}_i\right)^2}}$$

Ajuste por mínimos cuadrados mediante el programa Excel.

Si empleamos una hoja de cálculo excel, la función Estimación.lineal nos proporciona los valores de la pendiente de la recta, de la ordenada en el origen, sus errores y el coeficiente de correlación. Para ello hemos de introducir en el argumento de la función los siguientes datos:

- Conocido x: conjunto de datos de partida (seleccionar con el ratón los datos de columna de la variable independiente).
- Conocido y: conjunto de datos experimentales (seleccionar con el ratón los datos de la columna de la variable dependiente).
- Constante: 1 (si queremos forzar a que la recta pase por el origen tendríamos que poner 0 en lugar de 1).
- Estadística: 1 (Para que la función nos dé después los errores de los parámetros de la recta).

Una vez que hemos completado los argumentos y ejecutamos la función obtendremos en una celda el valor de la pendiente. Seleccionamos ahora un conjunto de celdas de al menos 3 filas por dos columnas de las cuales la primera a la izquierda debe ser la celda donde tenemos el valor de la pendiente. A continuación editamos la función, haciendo clic con el ratón en la barra de funciones y apretando simultáneamente las teclas CONTROL, MAYÚSCULAS Y ENTER nos aparecen los datos estadísticos que nos interesan:

PENDIENTE	ORDENADA AL ORIGEN
ERROR DE LA PENDIENTE	ERROR DE LA ORDENADA AL ORIGEN
COEFICIENTE DE CORRELACIÓN	

Si queremos que nos aparezca la gráfica, tenemos que utilizar Insertar gráfico en el menú. De todas las opciones de gráficas que nos aparecen utilizaremos xy (dispersión).
El menú opciones de gráfico, nos permite introducir títulos, nombres de los ejes etc… Para agregar la recta del ajuste a la gráfica obtenida tenemos que en el menú gráfico elegir agregar línea de tendencia. Si seleccionamos la opción presentar ecuación en el gráfico nos mostrará la ecuación de la regresión lineal en el dibujo de la gráfica.

Incertidumbre en la determinación del analito en la disolución de una muestra de concentración desconocida, mediante el método de la curva de calibración

A partir de la ecuación de la recta obtenida con la curva de calibración de los diferentes estándares es posible calcular la concentración del analito en una muestra de concentración desconocida. Para ello se requiere efectuar la medida de la señal correspondiente y despejar el valor de la concentración en la ecuación de la recta.
Éste despeje de la ecuación generada por la curva de calibración será el mensurando.

Dándo esctructura a las ecuaciones encontramos:

$y = mx + b$

Dónde:

y = El eje de las absisas

m = pendiente

x = eje ordenadas

b = ordenada al origen

$Ri = Fr\ C + b$

Dónde

Ri = eje absisas respuesta instrumental

Fr = pendiente, Factor de respuesta

C = eje ordenadas, concentración

b = ordenada al origen

Despejando:

$$C = \frac{Ri - b}{Fr}$$

De esta ecuación se observa que hay tres parámetros que son causa de incertidumbre en la determinación de la concentración : 1) la medida (y) efectuada (Ri), 2) la de la ordenada al origen (b) de la recta de regresión y 3) la de la pendiente (Fr) de la recta . De esta manera el cálculo de la concentración en la ecuación anterior se verá afectado por la incertidumbre en estos tres parámetros.

$$C = \frac{Ri \pm sy - b \pm sb}{Fr \pm s_m}$$

El mensurando al cual vamos a estimar la incertidumbre es:

$$\mathrm{C} = \frac{\mathrm{Ri} \pm \mathrm{sy} - \mathrm{b} \pm \mathrm{sb}}{\mathrm{Fr} \pm \mathrm{s}}$$

Aplicando la ley de propagación de la incertidumbre se propone la expresión:

$$\mathrm{Uc} = \mathrm{C}\sqrt{\left(\frac{U_{Ri-b}}{Ri-b}\right)^2 + \left(\frac{U_{Fr}}{Fr}\right)^2 + \left(\frac{U_{dil}}{F_{dil}}\right)^2 + \left(\frac{S_c}{\bar{C}\cdot\sqrt{3}}\right)^2}$$

$$\mathrm{Uc} = \mathrm{C}\sqrt{\left(\frac{U_{y-b}}{y-b}\right)^2 + \left(\frac{U_{m}}{m}\right)^2 + \left(\frac{U_{dil}}{F_{dil}}\right)^2 + \left(\frac{S_c}{\bar{C}\cdot\sqrt{3}}\right)^2}$$

$\bar{\mathrm{C}} = \mathrm{U}_C \times 2$ Al 95% de confianza.

Consideraciones finales

Es importante señalar que las unidades de concentración de la muestra leída con la técnica instrumental empleada, serán las de la curva de calibración escogida.

En otras palabras, debe haber concordancia de las unidades de concentración de analito en muestra y analito estándar de curva patrón.

Consideraciones finales

Cuidar las condiciones experimentales, transferencias y contenciones volumétricas, introducción de la muestra al instrumento, así como la toma de lectura con el fin de asegurar la repetibilidad.

También considerar si es que se realizaron diluciones o tratamientos a la muestra antes de hacer la lectura instrumental.

Consideraciones finales

Por último siempre documentar todos los aspectos de la labor experimental con el fin de llevar registro completo del trabajo en laboratorio.
Es la evidencia de la labor experimental y una tarea clave en todo laboratorio.