

PRIMERA RELACIÓN DE PROBLEMAS. CALIBRACIÓN EN QUÍMICA ANALÍTICA

1.- En la determinación de una especie X por un método instrumental en el que la señal analítica se define como $P = kC_x$, se obtuvieron los siguientes datos de calibración:

Concentración de X, ppm	0	2	6	10	14	18
Señal analítica, P	0,031	0,173	0,422	0,702	0,956	1,248

- Representa y calcula la ecuación de la curva de calibrado.
- Calcular la concentración molar de X en una muestra, si al medir la intensidad de la señal analítica se obtiene un valor de $P = 0,532$.
- Sabiendo que la desviación estándar absoluta del blanco es $s_b = 0.0079$, calcula el límite de detección y de cuantificación del compuesto X usando éste método instrumental.
- Define la sensibilidad del calibrado y calcula la sensibilidad analítica del método propuesto.

Dato: $P_m(X) = 207.2 \text{ g mol}^{-1}$

Solución: a) $y = 0,0670x + 0.03001$; b) $3.615 \times 10^{-5} \text{ M}$; c) $\text{LOD} = 0.353$ y $\text{LOQ} = 1.180$; d) 0.067 y 0.143

2.- Se llevó a cabo la determinación de un metal M en vinos mediante una técnica óptica (absorción atómica). Para ello, en cinco matraces aforados de 50 mL se pusieron 10 mL de vino y se le añadieron a cada uno de ellos 0, 5, 10, 15 y 20 mL de una disolución patrón de M conteniendo una concentración de 10 mg L^{-1} de dicho metal. Seguidamente, los matraces se enrasaron con agua desionizada y se midió la absorbancia de cada una de ellas obteniendo los siguientes valores: 0.040, 0.062, 0.081, 0.102, 0.135. Realiza un esquema del experimento propuesto y explica brevemente que tipo de método de calibración se ha usado para la determinación del M. Finalmente calcula la ecuación de la recta de regresión y obtén la concentración del M en el vino (mg L^{-1}).

Solución: 8.26 mg L^{-1} de M

3.- Un acero de alto grado se analizó para ver su contenido en Mn, usando para su determinación Fe como estándar interno. Se preparó una muestra estándar que contenía Fe y 5 mg L^{-1} de Mn cuya lectura de intensidades absolutas fueron 8.0 (2933 Å) y 10.2 (2932 Å) respectivamente. Una muestra desconocida de acero se trató de la misma forma, es decir, se le añadió la misma concentración de Fe y se midieron las intensidades absolutas a las longitudes de onda correspondientes para cada metal obteniéndose valores de 8.2 y 12.5 para Fe y Mn respectivamente. Explica brevemente en qué consiste el método de calibración usando patrón interno y calcula la concentración de Mn en la muestra de acero desconocida.

Solución: 5.98 mg L^{-1} de Mn

4.- Un analista industrial desea comparar el método del estándar interno con el método de la adición estándar para el análisis de K. Previamente decidió usar Li como elemento de referencia en el método del estándar interno. A partir de los datos que se especifican a continuación calcular las concentraciones de K por ambos métodos.

a) Estándar interno a partir de los datos que se presentan en la siguiente tabla:

K (ppm)	1.0	2.0	5.0	10.0	20.0	50.0	Problema
I_K	10.0	15.3	22.2	35.4	56.4	77.5	38.0
I_{Li}	10.0	10.5	9.5	10.0	11.0	10.0	10.5

b) Adición estándar: Se preparan muestras estándar conteniendo 0, 1, 2, 5, 10, 20 y 50 ppm de K. Se mezcla una alícuota de 10 mL de cada una de las disoluciones anteriores con 10 mL del problema y se obtienen las siguientes intensidades: 18.0, 19.5, 21.0, 25.5, 33.0, 48.0, 93.0.

Solución: 15.31 ppm ; 6 ppm

a) Método del patrón interno: hay que calcular la relación de señales para hacer la regresión:

K (ppm)	1.0	2.0	5.0	10.0	20.0	50.0	Problema
I_K/I_{Li}	1.0	1.457	2.337	3.540	5.127	7.75	3.619

5.- Tras las diluciones oportunas de una disolución patrón, se obtuvieron disoluciones de hierro cuyas concentraciones se muestran en la tabla mostrada a continuación. Posteriormente se obtuvo el complejo de hierro (II)-1,10-fenantrolina en alícuotas de 25.0 mL de estas disoluciones, a continuación cada una de ellas se diluyó hasta 50 mL. Se obtuvieron las siguientes absorbancias, a 510 nm.

Concentración de Fe(II) en las disoluciones originales, ppm	Absorbancias, A (cubeta de 1.00 cm)
2.00	0.164
5.00	0.425
8.00	0.628
12.00	0.951
16.00	1.260
20.00	1.582

- Construir una curva de calibrado a partir de estos datos.
- Por el método de los mínimos cuadrados, obtener una ecuación que relacione la absorbancia con la concentración de Fe(II).
- Calcular la desviación estándar de la regresión.
- Calcular la desviación estándar de la pendiente.
- El método desarrollado, antes expuesto, se aplicó en la determinación rutinaria de hierro en alícuotas de 25.0 mL de aguas naturales. Determinar la concentración (en ppm de Fe) de muestras que dieron los datos de absorbancia que siguen (en cubetas de 1.00 cm). Estimar las desviaciones estándar para las concentraciones calculadas. Repetir los cálculos considerando que los datos de absorbancia son la media de tres medidas: e.1) 0.107 e.2) 0.721 e.3) 1.538

Solución: b) $A=0.0781c_{Fe} + 0.0148$; c) $s_{y/x}=1.24x^{-2}$; d) $s_b=8.1 \times 10^{-4}$; e.1) $c_{Fe}=1.18$ ppm, $s_c=0.20$, $s_c=0.15$ (media de 3), e.2) $c_{Fe}=9.04$ ppm, $s_c=0.17$, $s_c=0.11$ (media de 3), e.3) $c_{Fe}=19.50$ ppm, $s_c=0.20$, $s_c=0.15$ (media de 3)

1.- En la determinación de una especie X por un método instrumental en el que la señal analítica se define como $P = kC_x$, se obtuvieron los siguientes datos de calibración:

Concentración de X, ppm	0	2	6	10	14	18
Señal analítica, P	0,031	0,173	0,422	0,702	0,956	1,248

- Representa y calcula la ecuación de la curva de calibrado.
- Calcular la concentración molar de X en una muestra, si al medir la intensidad de la señal analítica se obtiene un valor de $P = 0,532$.
- Sabiendo que la desviación estándar absoluta del blanco es $s_b = 0.0079$, calcula el límite de detección y de cuantificación del compuesto X usando éste método instrumental.
- Define la sensibilidad del calibrado y calcula la sensibilidad analítica del método propuesto.

Dato: $P_m(X) = 207.2 \text{ g mol}^{-1}$

Solución: a) $y = 0,0670x + 0,03001$; b) $3.615 \times 10^{-5} \text{ M}$; c) $\text{LOD} = 0.353$ y $\text{LOQ} = 1.180$; d) 0.067 y 0.143

a) Dado que la relación entre la señal analítica y la concentración es, presumiblemente, proporcional, debemos ajustar los datos a una recta $y = a + bx$ y comprobar que la ordenada en el origen no difiere significativamente de cero a un nivel de confianza que, analíticamente, se establece en el 95% (significación 0.05)

Ajustando por mínimos cuadrados tenemos:

$$y = 3.00 \cdot 10^{-2} + 6.704 \cdot 10^{-2} \cdot x$$

$$r^2 = 0.9996$$

$$s_{yx} = 1.09 \cdot 10^{-2}$$

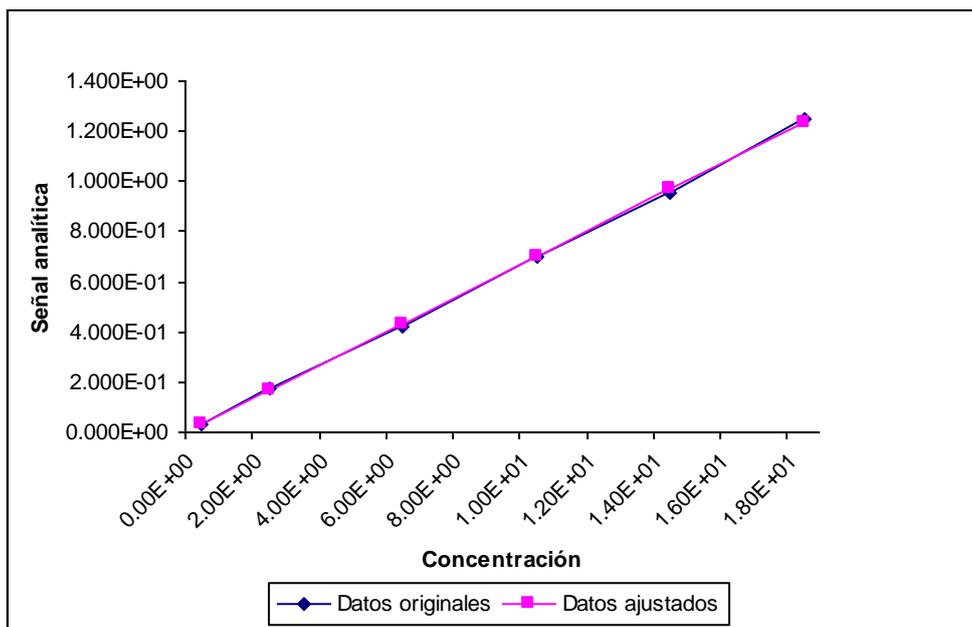
$$s_b = 7.0 \cdot 10^{-4}$$

$$s_a = 7.3 \cdot 10^{-3}$$

$$t(a=0) = 4.105$$

$$t_{teórico} (95\%, 4) = 2.132$$

Atendiendo a los valores del estadístico t , la ordenada en el origen no resulta despreciable a un nivel de confianza del 95% (significación 0.05). Por tanto, tendremos en cuenta el valor de la ordenada en el origen a la hora de calcular la concentración del analito X en la muestra problema. Para que fuese despreciable, tendríamos que elevar el nivel de confianza hasta el 99.5%, donde $t = 4.604$.



b) Si la señal analítica asciende a 0.532, la concentración resulta, por regresión inversa, sustituyendo en la ecuación de la recta, $x = 7.488$ ppm.

y =?	5.320E-01
replicados y=?	1.000E+00
x=	7.488E+00
Sx=	1.754E-01
der %=	2.343E+00

c) LOD y LOQ

$$LOD = \frac{3s_B}{b} = \frac{3 * 7.9 \times 10^{-3}}{6.704 \times 10^{-2}} = 0.36 \text{ ppm}$$

$$LOQ = \frac{10s_B}{b} = \frac{10 * 7.9 \times 10^{-3}}{6.704 \times 10^{-2}} = 1.2 \text{ ppm}$$

d) Sensibilidad del calibrado y sensibilidad analítica:

La sensibilidad del calibrado es el valor de la pendiente = 6.704×10^{-2}

La sensibilidad analítica, γ , se define como el valor de la pendiente entre la desviación estándar de las medidas:

$$\gamma = \frac{b}{S_s} = \frac{b}{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}{n-1}}} = \frac{6.704 \times 10^{-2}}{4.7 \times 10^{-1}} = 1.4 \times 10^{-1}$$

2.- Se llevó a cabo la determinación de un metal M en vinos mediante una técnica óptica (absorción atómica). Para ello, en cinco matraces aforados de 50 mL se pusieron 10 mL de vino y se le añadieron a cada uno de ellos 0, 5, 10, 15 y 20 mL de una disolución patrón de M conteniendo una concentración de 10 mg L⁻¹ de dicho metal. Seguidamente, los matraces se enrasaron con agua desionizada y se midió la absorbancia de cada una de ellas obteniendo los siguientes valores: 0.040, 0.062, 0.081, 0.102, 0.135. Realiza un esquema del experimento propuesto y explica brevemente que tipo de método de calibración se ha usado para la determinación del M. Finalmente calcula la ecuación de la recta de regresión y obtén la concentración del M en el vino (mg L⁻¹).

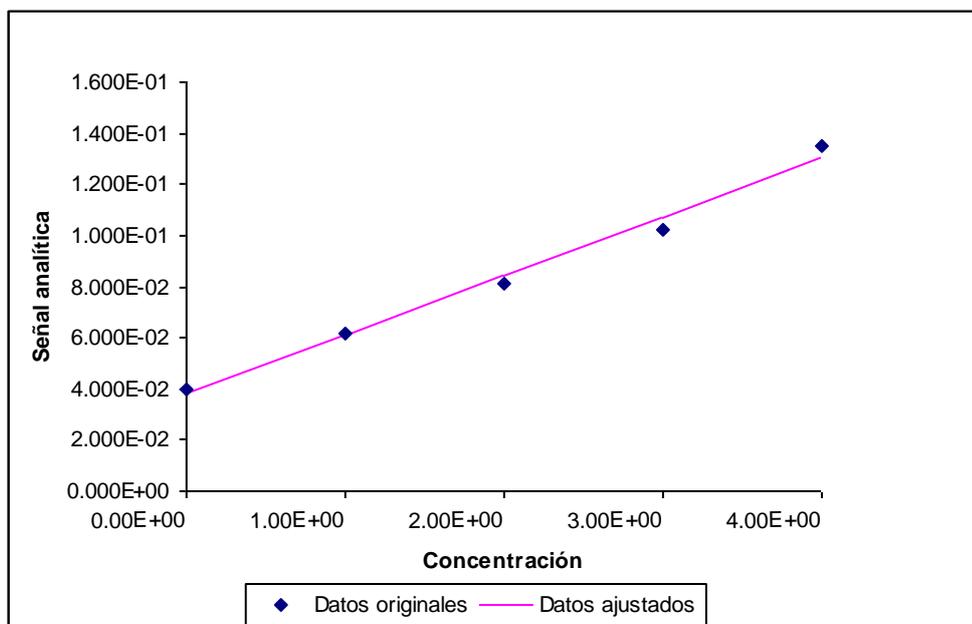
Solución: 8.26 mg L⁻¹ de M

El vino contiene M, los matraces de calibrado además de vino contienen concentraciones crecientes de M patrón. Se trata del método de la adición estándar. Con este método, tendremos el valor de la concentración haciendo y = 0 y estimando x. Para la concentración cambiamos de signo el valor de x obtenido.

Se construye la siguiente tabla:

Muestra	mL vino	mL M 10 ppm	[M] disolución de medida, ppm	Absorbancia
1	10	0	0	0.040
2	10	5	1	0.062
3	10	10	2	0.081
4	10	15	3	0.102
5	10	20	4	0.135

A título de ejemplo, la muestra 2 es de concentración 5 mL x 10 ppm = 50 mL x [M]
x = 5 x 10 / 50 = 1 ppm.



$$y = 3.80 \cdot 10^{-2} + 2.30 \cdot 10^{-2}x$$

$$r^2 = 0.9880$$

$$\begin{aligned} \text{syx} &= 4.619\text{E-}03 \\ \text{sb} &= 1.461\text{E-}03 \\ \text{sa} &= 3.578\text{E-}03 \end{aligned}$$

Para $y = 0$; $[M] = 1.65$ ppm ($s_x = 0.32$, para 1 replicado). Observamos que la imprecisión es muy elevada.

En el vino, la concentración de M es mayor, ya que éste se ha diluido 5 veces (50/10) para obtener la disolución de medida, por tanto:

$$[M]_{\text{vino}} = 5 * 1.65 = 8.3 \text{ ppm}$$

Recordatorio:

El principal inconveniente de este método es que se trata de un método de extrapolación, que es menos preciso que los de interpolación. El resultado se obtienen en una zona de la gráfica donde no hay puntos experimentales, por lo que cualquier variación de la pendiente de la recta por errores indeterminados se traduce en una variación apreciable en el resultado (el método puede ser inexacto, además de impreciso). En ambos sentidos influye el tamaño de la adición, pues hay que procurar que el tramo incierto no sea demasiado grande. Por otra parte, el método de la adición estándar puede ser difícil de automatizar, y suele necesitar cantidades mayores de muestra que cuando se utilizan otros métodos.

3.- Un acero de alto grado se analizó para ver su contenido en Mn, usando para su determinación Fe como estándar interno. Se preparó una muestra estándar que contenía Fe y 5 mg L⁻¹ de Mn cuya lectura de intensidades absolutas fueron 8.0 (2933 A) y 10.2 (2932 A) respectivamente. Una muestra desconocida de acero se trató de la misma forma, es decir, se le añadió la misma concentración de Fe y se midieron las intensidades absolutas a las longitudes de onda correspondientes para cada metal obteniéndose valores de 8.2 y 12.5 para Fe y Mn respectivamente. Explica brevemente en qué consiste el método de calibración usando patrón interno y calcula la concentración de Mn en la muestra de acero desconocida.

Solución: 5.98 mg L⁻¹ de Mn

En el método del patrón interno, se corrige la medida del analito respecto al patrón interno para así corregir las variaciones instrumentales. De tal manera que la variación sufrida por el analito es igualmente sufrida por el patrón interno, quedando anulada tal variación en la relación de señales.

Por tanto:

El patrón de 5 ppm de Mn da una relación de señales = $10.2/8 = 1.275$

La muestra cuya concentración de Mn queremos estimar = $12.5/8.2 = 1.524$

La concentración de Mn en la muestra de acero = $1.524 * 5/1.275 = 5.98$ ppm

El patrón interno sirve además para corregir tiempos de retención en cromatografía, etc.

Recordatorio:

El patrón interno es una sustancia que se añade a todas las muestras y estándares en cantidad conocida y a la vez en cantidad suficiente para poder ser determinado sin problemas. Su adición no debe causar ningún tipo de interferencia en el análisis, y debe proporcionar una señal analítica similar al analito en el análisis pero distinguible del mismo. Por supuesto, no debe estar presente en la matriz en estudio.

Se utiliza cuando el analista está interesado en la concentración de uno o algunos de los componentes y el método de análisis está sujeto tanto errores sistemáticos como aleatorios.

El método se basa en que cuando las señales del analito y el patrón interno responde proporcionalmente a las fluctuaciones del método y del instrumento empleado, entonces la razón de estas señales es independiente de tales fluctuaciones.

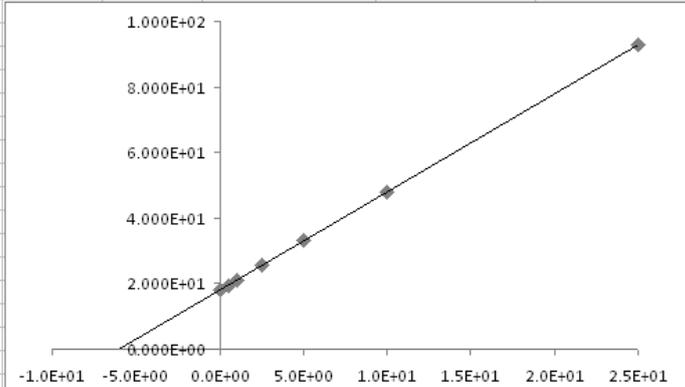
La principal ventaja es que con él se eliminan los problemas de fluctuación instrumental, minimizándose los errores instrumentales, ya que tanto el analito como el patrón interno experimentan las mismas variaciones.

b) Método de la adición estándar. Las concentraciones de K estándar en la disolución de medida y la señal vienen dados en la siguiente tabla:

K (ppm)	0	0.5	1.0	2.5	5.0	10.0	25.0
Absorbancia	18	19.5	21.0	25.5	33.0	48.0	93.0

REGRESION LINEAL POR MÍNIMOS CUADRADOS

	xi	yi	xi ²	xiyi	(xi-xm) ²	yical	(yi-yical) ² residuales	(yi-ymedia) ²	(ycali-ymedia) ²
	0.000E+00	1.800E+01	0.000E+00	0.000E+00	3.951E+01	1.800E+01	1.262E-29	3.556E+02	3.556E+02
	5.000E-01	1.950E+01	2.500E-01	9.750E+00	3.347E+01	1.950E+01	1.262E-29	3.013E+02	3.013E+02
	1.000E+00	2.100E+01	1.000E+00	2.100E+01	2.794E+01	2.100E+01	1.262E-29	2.514E+02	2.514E+02
	2.500E+00	2.550E+01	6.250E+00	6.375E+01	1.433E+01	2.550E+01	1.262E-29	1.290E+02	1.290E+02
	5.000E+00	3.300E+01	2.500E+01	1.650E+02	1.653E+00	3.300E+01	0.000E+00	1.488E+01	1.488E+01
	1.000E+01	4.800E+01	1.000E+02	4.800E+02	1.380E+01	4.800E+01	0.000E+00	1.242E+02	1.242E+02
	2.500E+01	9.300E+01	6.250E+02	2.325E+03	3.502E+02	9.300E+01	0.000E+00	3.152E+03	3.152E+03
n datos	7.000E+00								
Sum	4.400E+01	2.580E+02	7.575E+02	3.065E+03	4.809E+02		5.049E-29	4.328E+03	4.328E+03
media	6.286E+00	3.686E+01							
			estimación de x						
b=	3.000E+00								
a=	1.800E+01			y = ?	0.000E+00				
r ² =	1.000E+00			replicados y=	1.000E+00				
syx =	3.178E-15			x=	-6.000E+00				
sb =	1.449E-16			sx=	1.278E-15				
sa =	1.507E-15			der %=	-2.131E-14				
t(a=0)	1.194E+16			replicados y=	3.000E+00				
sy _a =	1.278E-15			sx=	9.415E-16				
ty _a (a=0)	1.408E+16			der %=	-1.569E-14				



Como la muestra problema está el doble concentrada que la disolución de medida (10 mL de muestra a un volumen final de 20 mL) la concentración de K en la muestra es $2 \times 6 = 12$ ppm, siendo muy precisa la estimación. Además de una distribución homogénea de los residuales, r^2 es prácticamente la unidad, por lo que se puede considerar que el modelo matemático explica toda la varianza.

Observamos que para la determinación de K en mucho mejor el método de la adición estándar que el método del patrón interno.

5.- Tras las diluciones oportunas de una disolución patrón, se obtuvieron disoluciones de hierro cuyas concentraciones se muestran en la tabla mostrada a continuación. Posteriormente se obtuvo el complejo de hierro (II)-1,10-fenantrolina en alícuotas de 25.0 mL de estas disoluciones, a continuación cada una de ellas se diluyó hasta 50 mL. Se obtuvieron las siguientes absorbancias, a 510 nm.

Concentración de Fe(II) en las disoluciones originales, ppm	Absorbancias, A (cubeta de 1.00 cm)
2.00	0.164
5.00	0.425
8.00	0.628
12.00	0.951
16.00	1.260
20.00	1.582

- Construir una curva de calibrado a partir de estos datos.
- Por el método de los mínimos cuadrados, obtener una ecuación que relacione la absorbancia con la concentración de Fe(II).
- Calcular la desviación estándar de la regresión.
- Calcular la desviación estándar de la pendiente.
- El método desarrollado, antes expuesto, se aplicó en la determinación rutinaria de hierro en alícuotas de 25.0 mL de aguas naturales. Determinar la concentración (en ppm de Fe) de muestras que dieron los datos de absorbancia que siguen (en cubetas de 1.00 cm). Estimar las desviaciones estándar para las concentraciones calculadas. Repetir los cálculos considerando que los datos de absorbancia son la media de tres medidas: e.1) 0.107 e.2) 0.721 e.3) 1.538

Solución: b) $A=0.0781c_{Fe} + 0.0148$; c) $s_{y/x}=1.24x^{-2}$; d) $s_b=8.1x10^{-4}$; e.1) $c_{Fe}=1.18$ ppm, $s_c=0.20$, $s_c=0.15$ (media de 3), e.2) $c_{Fe}=9.04$ ppm, $s_c=0.17$, $s_c=0.11$ (media de 3), e.3) $c_{Fe}=19.50$ ppm, $s_c=0.20$, $s_c=0.15$ (media de 3)

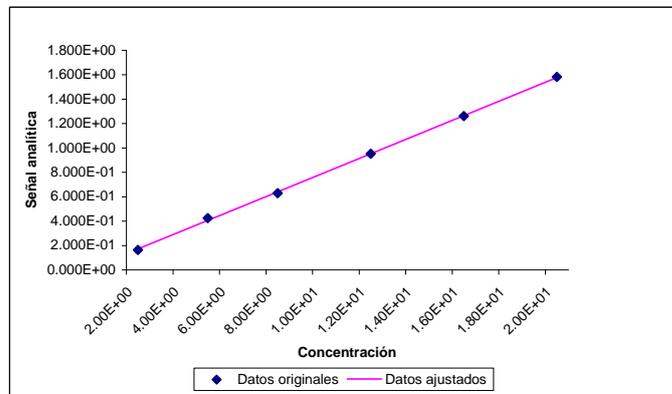
Hacemos uso de la hoja EXCEL para la regresión por mínimos cuadrados:

REGRESION LINEAL POR MÍNIMOS CUADRADOS

xi	yi	xi2	xiyi	(xi-xm)2	yical	(yi-yical)2 residuales	(yi-ymedia)2	(ycali-ymedia)2
2.00E+00	1.640E-01	4.000E+00	3.280E-01	7.225E+01	1.710E-01	4.912E-05	4.502E-01	4.409E-01
5.00E+00	4.250E-01	2.500E+01	2.125E+00	3.025E+01	4.054E-01	3.858E-04	1.681E-01	1.846E-01
8.00E+00	6.280E-01	6.400E+01	5.024E+00	6.250E+00	6.397E-01	1.371E-04	4.285E-02	3.814E-02
1.200E+01	9.510E-01	1.440E+02	1.141E+01	2.250E+00	9.522E-01	1.380E-06	1.346E-02	1.373E-02
1.600E+01	1.260E+00	2.560E+02	2.016E+01	3.025E+01	1.265E+00	2.154E-05	1.806E-01	1.846E-01
2.000E+01	1.582E+00	4.000E+02	3.164E+01	9.025E+01	1.577E+00	2.393E-05	5.580E-01	5.507E-01

n datos	6.000E+00							
Sum	6.300E+01	5.010E+00	8.930E+02	7.069E+01	2.315E+02	6.189E-04	1.413E+00	1.413E+00
media	1.050E+01	8.350E-01						

b=	7.812E-02	estimación de x	
a=	1.478E-02	y=?	1.070E-01
r2=	9.996E-01	replicados y=?	1.000E+00
syx =	1.244E-02	x=	1.181E+00
sb =	8.175E-04	sx=	1.977E-01
sa =	9.973E-03	der %=	1.675E+01
t(a=0)	1.481E+00		
sya=	2.052E-01		
tva(a=0)	7.202E-02		



La recta por mínimos cuadrados ($y = a + bx$) que relaciona la señal de los patrones de calibrado con su concentración es:

$$A = 1.478 \times 10^{-2} + 7.812 \times 10^{-2} C_{\text{Fe}^{2+}} \text{ (ppm)}$$

Desviación estándar de la regresión s_{yx} :

$$s_{yx} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}} = \sqrt{\frac{6.189 \times 10^{-2}}{6-2}} = 1.24 \times 10^{-2}$$

Es la suma de los residuales al cuadrado, afectan más aquellos datos que se ajustan peor.

Cuanto mayor es n , menor es la desviación estándar de la regresión, si los datos se ajustan bien, pero esto supone más trabajo experimental.

Desviación estándar de la pendiente, s_b :

$$s_b = \frac{s_{yx}}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} = \frac{1.244 \times 10^{-2}}{\sqrt{2.315 \times 10^2}} = 8.175 \times 10^{-4}$$

Estimación de la concentración y su precisión:

$$s_c = \frac{s_{yx}}{b} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{N} + \frac{(y - \bar{y})^2}{b^2 \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}$$

A tener en cuenta:

- A mayor pendiente menor desviación estándar de la estimación.
- A menor s_{yx} , menor desviación estándar de la estimación, es decir:
 - o menores residuales
 - o mayor número de datos siempre que se ajusten bien al modelo lineal (esto supone más trabajo experimental, a tener en cuenta)
- A mayor número de replicados, más precisión en la estimación (más trabajo experimental)
- La señal a medir debe ser próxima al centro de gravedad de la recta de calibrado (valores medios de x y y) para mejor precisión. Si se aparta mucho, quizás sea mejor diluir la disolución de medida, o preconcentrala. A tener en cuenta que podemos introducir nuevos errores.
- Un buen diseño del calibrado, patrones de concentración uniformemente distribuidos sobre el centro de gravedad, lleva a una buena precisión en la estimación.

A título de ejemplo, para 3 replicados y $A = 0.107$, se tiene:

$$s_c = \frac{1.24 \times 10^{-2}}{7.812 \times 10^{-2}} \sqrt{\frac{1}{3} + \frac{1}{6} + \frac{(0.107 - 0.835)^2}{(7.812 \times 10^{-2})^2 \times (2.315 \times 10^2)}} = 1.5 \times 10^{-1}$$

Muestra 1, A = 0.107 (por debajo del calibrado)		
Concentración	S_c (1 replicado)	S_c (3 replicados)
1.18	2.0×10^{-1}	1.5×10^{-1}

Muestra 2, A = 0.721 (en el centro de gravedad)		
Concentración	S_c (1 replicado)	S_c (3 replicados)
9.04	1.7×10^{-1}	1.1×10^{-1}

Muestra 3, A = 1.538 (en la parte superior)		
Concentración	S_c (1 replicado)	S_c (3 replicados)
19.5	2.0×10^{-1}	1.5×10^{-1}