

# 1. INTRODUCCIÓN GENERAL A LAS TÉCNICAS INSTRUMENTALES ANALÍTICAS

Para comenzar este manual, se hará una introducción general a las técnicas instrumentales analíticas, las cuales son esenciales para lograr los avances en el ámbito de las ciencias, especialmente ciencias de la salud, de los que se pueden disfrutar en la actualidad.

Algunos aspectos que van a ser abordados en este espacio se corresponden con las características de las técnicas instrumentales de análisis, así como la clasificación que se puede hacer de las mismas.

En última instancia se tratará el tema de la calibración de equipos, pudiéndose aplicar, para ello, tres metodologías diferentes: Calibrado directo, calibrado con adición estándar y calibración con patrón interno.

## 1.1. Historia de las técnicas instrumentales

El principal problema en un laboratorio es determinar lo que hay en una muestra, es decir, su composición, ya que esta puede tratarse de una sustancia pura o una mezcla.

Antes del surgimiento de las técnicas instrumentales, el contenido de una muestra se determinaba mediante la composición centesimal de C, H, O, N, P... En el siglo XX surgieron las técnicas instrumentales de análisis, gracias al descubrimiento de la interacción entre la radiación electromagnética (REM) con la materia.

La radiación genera efectos sobre la materia. Como ejemplo se encuentran los rayos X (radiación ionizante), que entre otros efectos produce desórdenes celulares.



Figura 1.1. Muestras.

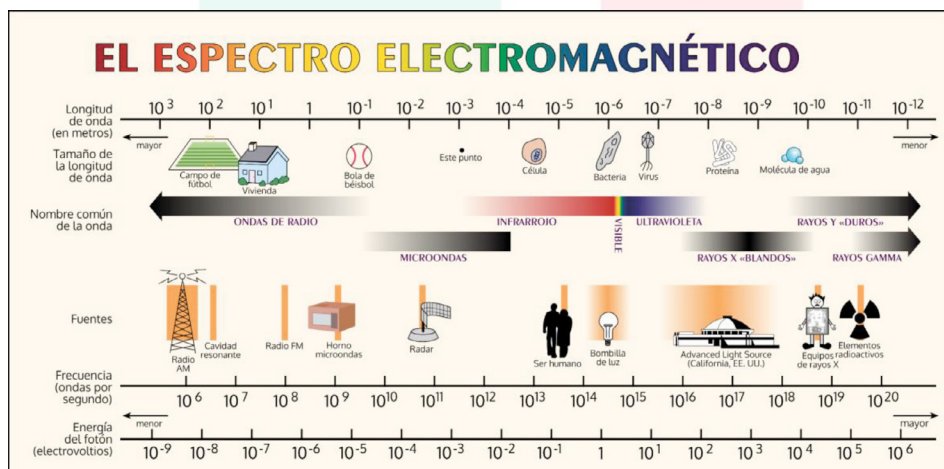


Figura 1.2. Radiaciones electromagnéticas.

#### 1.1.1. Diferencia entre fosforescencia y fluorescencia

- **Fosforescencia:** Absorben REM, y la emiten más lentamente. La REM permanece durante un tiempo.
- **Fluorescencia:** Para emitir necesitan una constante absorción de REM.



Figura 1.3. Fluorescencia y fosforescencia.

## 1.2. Características de las técnicas instrumentales de análisis

Una técnica instrumental es una metodología de análisis de trabajo para identificar algo, compuestos, moléculas, iones... Dicha metodología puede ser cuantitativa o cualitativa.

### 1.2.1. Parámetros de calidad de un método

Los *parámetros* a tener en cuenta para determinar la calidad de un método de análisis se resumen a continuación:

#### *Analito*

Se define como tal a la sustancia a identificar, ya sea un ion, moléculas, macromoléculas... El analito puede ser estudiado de manera analítica cualitativa, si lo que se mide es su presencia o, por el contrario, cuantitativa, si lo que se mide es su cantidad o concentración.

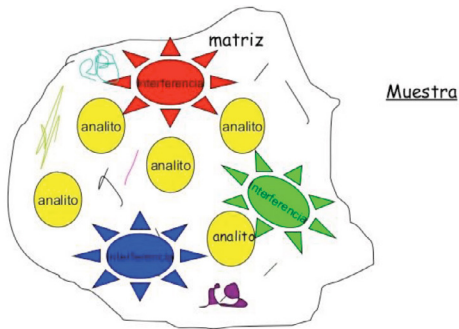


Figura 1.4. *Analito.*

### *Cifras significativas*

Se corresponde con la manera de expresar el resultado con la mayor precisión posible.

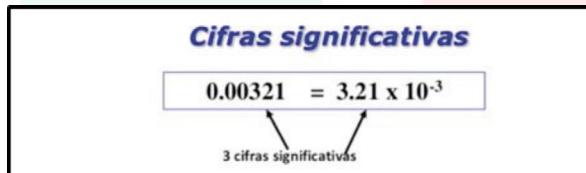


Figura 1.5. *Cifras significativas.*

### *Técnica*

Principio científico genérico que se utiliza para extraer cierta información.

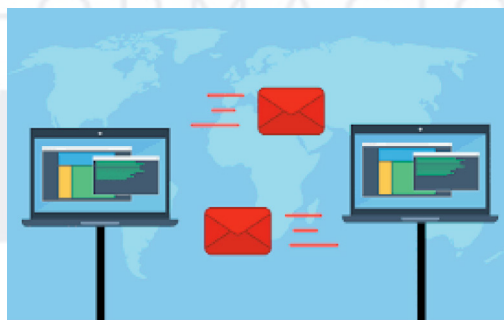


Figura 1.6. *Técnica.*

### *Método*

Aplicación de una técnica analítica para determinar un analito o mezcla de una muestra definida.



**Figura 1.7. Método.**

### *Procedimiento*

Descripción del método analítico.



**Figura 1.8. Procedimiento.**

### *Protocolo*

Conjunto de normas definidas. El procedimiento es igual para todos, dado que son prescritos por un organismo oficial, para su uso en una situación dada.



Figura 1.9. Protocolo.

### *Precisión*

Grado de concordancia mutua entre los datos de una misma muestra. Entre los parámetros de precisión se encuentra la media, varianza, desviación típica, desviación estándar...

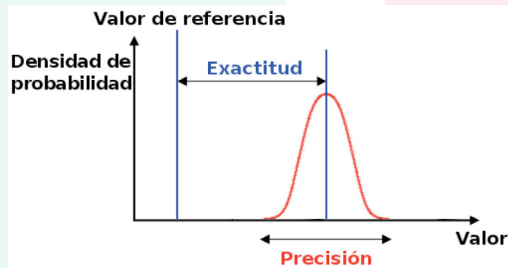


Figura 1.10. Precisión.

### *Exactitud*

Diferencia entre el valor verdadero y el valor que mide el aparato.

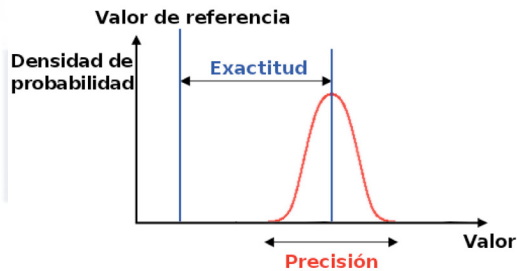


Figura 1.11. Exactitud.

### *Sesgo*

Diferencia entre la población que existe y la parte de la población que se mide o analiza. La diferencia con la exactitud es el error sistemático del método.



Figura 1.12. Sesgo.

### *Sensibilidad*

Capacidad de un método para diferenciar pequeñas variaciones en la concentración. Depende de dos *factores*: La pendiente de la curva de calibrado, y la precisión del sistema de medida.

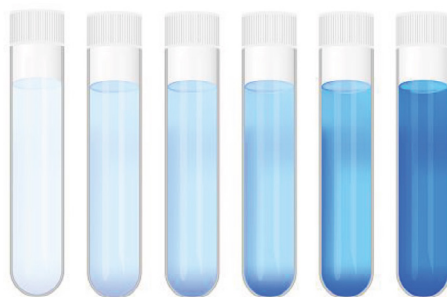
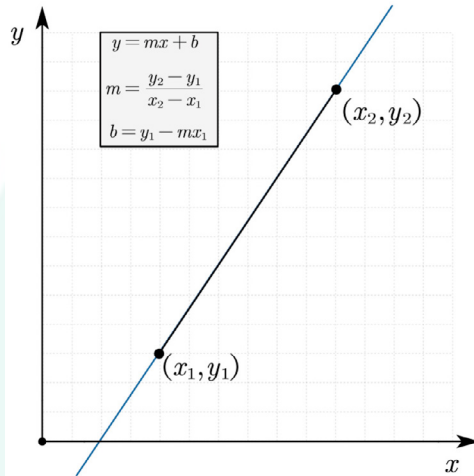


Figura 1.13. Sensibilidad.

### *Sensibilidad analítica*

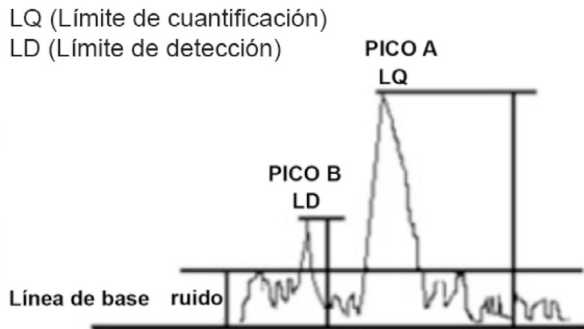
Cociente de la pendiente de la recta entre la desviación estándar de los datos con los que se ha obtenido la recta. A grandes diferencias de señal hay poca variación de concentración cuando la pendiente de la recta es muy grande.



**Figura 1.14.** Sensibilidad analítica: Pendiente de la recta.

### Límite de detección

Concentración más baja de un analito que se puede detectar de forma fiable.

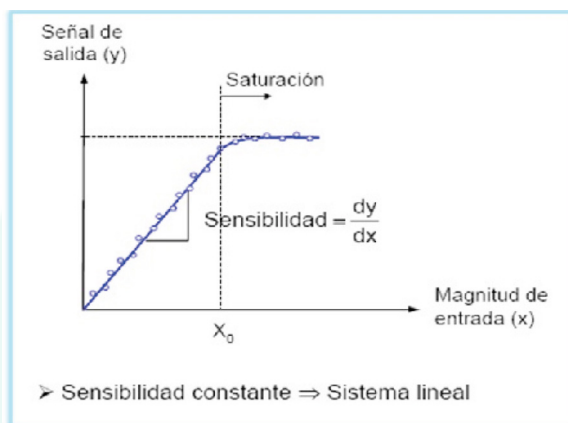


**Figura 1.15.** Límite de detección.

### Intervalo útil de curva de calibrado

Relación entre la señal y la concentración. Comienza en el límite de cuantificación y termina en el límite de linealidad.





**Figura 1.16.** Curva de calibrado.

### *Selectividad*

Capacidad de un método para diferenciar e identificar en una mezcla de varios analitos.



**Figura 1.17.** Selectividad.

### 1.3. Clasificación de las técnicas instrumentales

Las técnicas de análisis clásicas, empleadas con anterioridad al siglo XIX, se basan en interacción materia-materia, esto es, en reacciones químicas. Se diferenciaban técnicas analíticas cuantitativas como la volumetría, la gravimetría...; y técnicas analíticas cualitativas como el punto de fusión...

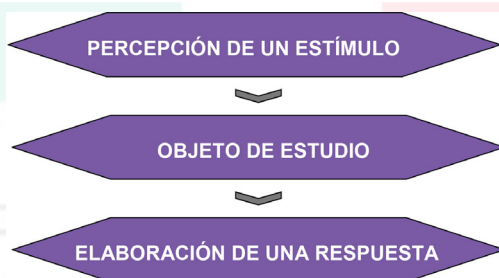
En el siglo XX, surgen las técnicas instrumentales de análisis. Estas se basan en interacciones materia-energía, quienes utilizan un instrumento más o menos complejo para evaluar una propiedad física o fisicoquímica del sistema objeto de estudio. No obstante, hay que tener en cuenta que no es esencial el concurso de una reacción química.

Por otro lado, considerar que existen ciertas *ventajas* respecto a las técnicas clásicas:

1. Detectar concentraciones muy bajas de analitos.
2. Presentan una gran rapidez, ya que permiten determinar distintas concentraciones en poco tiempo.

#### 1.3.1. Esquema de funcionamiento de las técnicas instrumentales

El *funcionamiento* de las técnicas instrumentales queda resumido en las siguientes etapas:

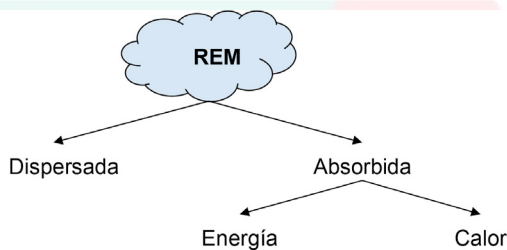


**Figura 1.18.** *Funcionamiento técnicas instrumentales.*

Finalmente es importante concluir que la señal de la respuesta debe estar en función del analito. Para ello se necesita una constante, con el fin de obtener una curva de calibrado.

### 1.3.2. Técnicas instrumentales ópticas

Las técnicas ópticas hacen uso de una fuente de REM. Esta radiación puede ser absorbida o dispersada. Una vez que la muestra ha absorbido REM, puede emitir radiación o calor. En base a ello, se hace una primera clasificación.



**Figura 1.19.** Técnicas instrumentales ópticas: Primera clasificación.

La segunda clasificación distingue entre:

#### *Técnicas espectroscópicas*

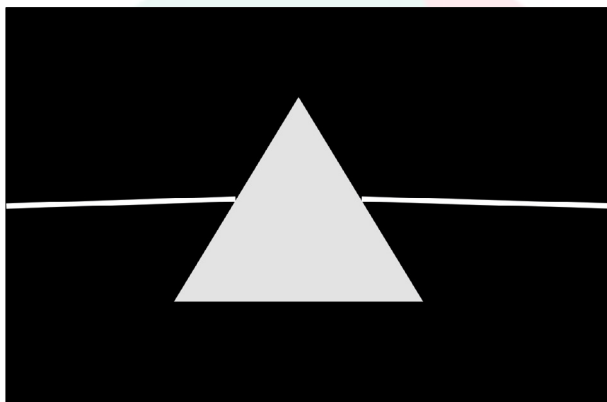
Cuando la señal que se mide procedente de la muestra varía de intensidad con respecto a la longitud de onda o la frecuencia. Es decir, esto significa que existen transiciones cuantizadas por parte de la muestra.



**Figura 1.20.** Técnicas espectroscópicas.

### *Técnicas no espectroscópicas*

No existen transiciones cuantizadas, es decir, no hay cambios de dirección.



**Figura 1.21.** *Técnicas no espectroscópicas.*

Existe una *tercera clasificación*, la más útil, según el proceso que tenga lugar pudiéndose distinguir entre:

- *Técnicas espectroscópicas moleculares de absorción:* Son técnicas donde se absorbe REM. Dentro de ellas se encuentran las técnicas del ultravioleta, visible, infrarrojo...
- *Técnicas espectroscópicas moleculares de emisión:* Son procesos fotoluminosos. En este caso, la muestra emite REM, previa absorción de REM (fluorescencia, fosforescencia...).
- *Técnicas espectroscópicas atómicas de absorción:* En las muestras que hay emisión sin previa absorción de REM, la excitación no ocurre con REM, sino que ocurren procesos térmicos o procesos eléctricos, como puede ser la absorción atómica, de rayos X...
- *Técnicas espectroscópicas atómicas de emisión:* Son aquellas donde hay cambios en la REM, pero no es absorbida o dispersada.
- *Otras técnicas:* Constituyen un gran grupo de técnicas como la microscopía.

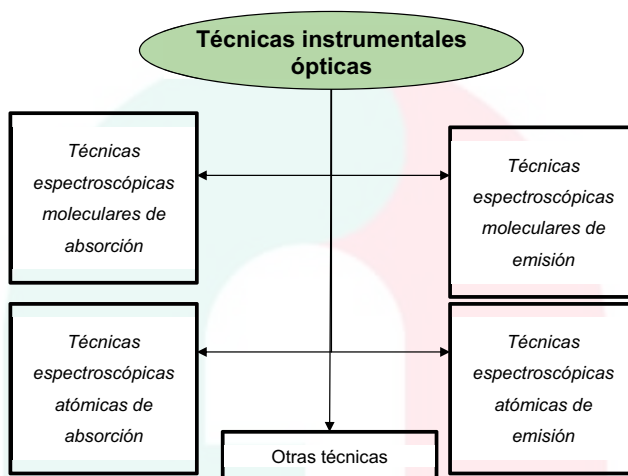


Figura 1.22. Técnicas instrumentales ópticas: Tercera clasificación.

### 1.3.3. Técnicas eléctricas

Son técnicas donde la muestra interacciona con una corriente eléctrica, es decir, electrones. En función de los procesos que ocurran se distinguen tres grupos:

#### Grupo A: Macrorreacción química

La muestra va a proporcionar una señal, la cual será función de toda concentración de analito, pero todo el analito se ha electrooxidado o electroreducido. Dentro de estas técnicas se encuentran la electrogravimetría, coulombimetría...



Figura 1.23. Coulombimetría.

*Grupo B: Microrreacción química*

Solo el analito que está en contacto con el electrodo se va a electrooxidar o electroreducir, generando una señal proporcional a toda la muestra. Son técnicas muy sensibles, que permiten concentraciones pequeñas. Algunos ejemplos son la potenciometría, voltamperometría o amperometría...



**Figura 1.24.** *Potenciometría.*

*Grupo C*

En este grupo no hay interacción con el electrodo, no hay reducción ni oxidación. Algunos ejemplos son la conductimetría o la electroforesis.

ALCALÁ

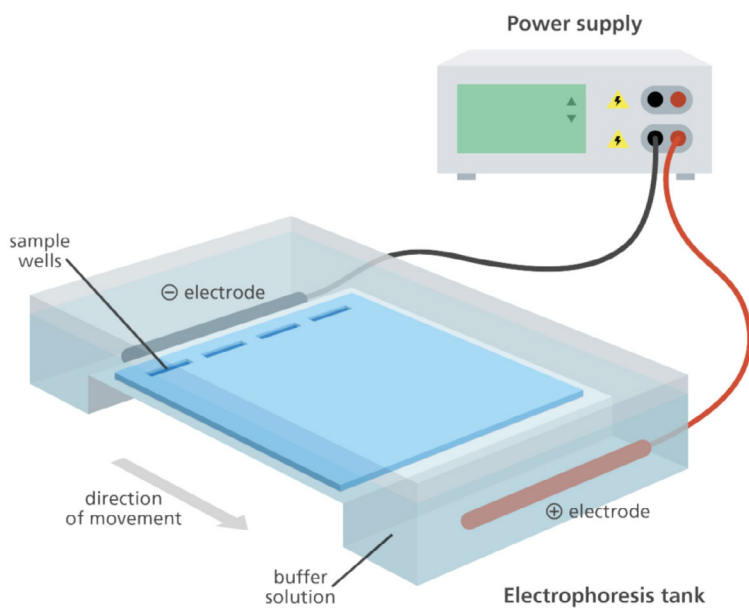


Figura 1.25. Electroforesis.

#### 1.4. Calibración de un equipo

Para confirmar que las medidas son correctas, es necesario que los equipos se encuentren correctamente calibrados. Para ello, existen tres modalidades diferentes:

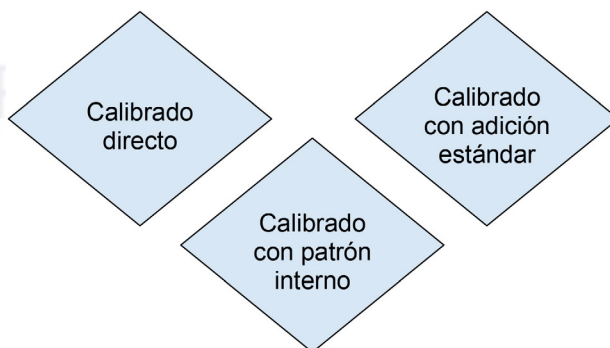


Figura 1.26. Tipos de calibración.

### 1.4.1. Calibrado directo

La calibración del equipo se realiza mediante disoluciones patrón, es decir, se preparan diferentes disoluciones de concentraciones conocidas con el analito cuyo valor se quiere determinar, tras esto se mide la señal de estos patrones, así se representan gráficamente.

Para lograr este calibrado, se parte de una curva de calibrado  $g = ax + b$ , haciendo un ajuste por mínimos cuadrados, de manera que se obtiene que la concentración es  $x = (yb)/a$ .

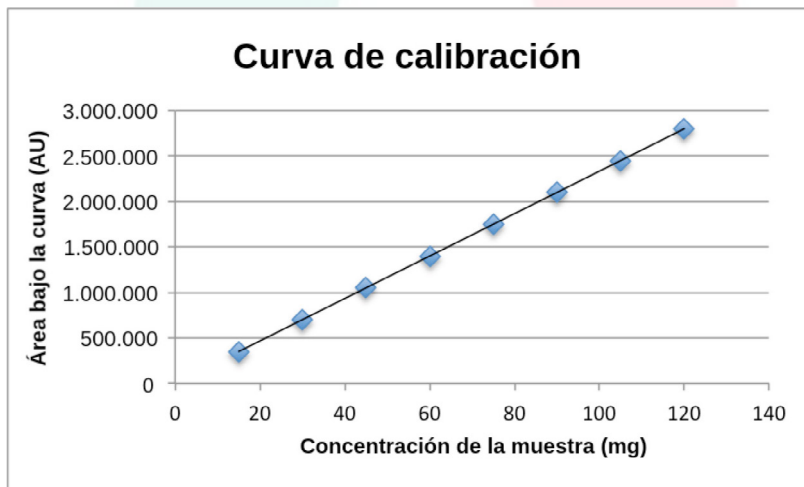


Figura 1.27. Curva de calibración.

Conociendo  $a$  y  $b$  es posible medir la concentración de la disolución problema. La concentración de la disolución patrón tiene que estar en el rango de la disolución problema.

### 1.4.2. Calibrado con adición estándar

Este método es útil para matrices complejas. Para llevarlo a cabo se adicionan diferentes volúmenes de una disolución patrón alícuota de la mezcla. Acto seguido, se obtiene la misma a partir de una interpolación, teniendo en cuenta que si sale negativo se toma el valor absoluto. Además, en todo caso se tiene en cuenta la matriz, pero el patrón y el analito es el mismo.





Figura 1.28. Calibrado con adición estándar.

### 1.4.3. Calibración con patrón interno

El patrón no tiene relación con el analito a determinar. Para ello, se emplea en aquellas técnicas en las que la señal depende de factores poco reproducibles y que pueden variar en el curso del análisis. La variable analítica es el cociente de señales del analito y del patrón interno.

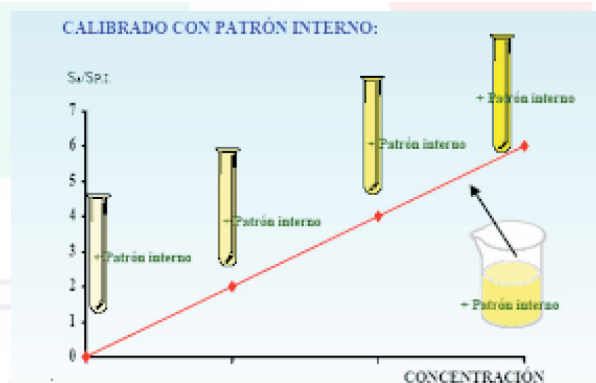


Figura 1.29. Calibración con patrón interno.

Finalmente concluir que el patrón interno es una sustancia que no está en la muestra a analizar, con un comportamiento similar al del analito y que no interfiere en el análisis de este.