

MÉTODOS ANALÍTICOS INSTRUMENTALES

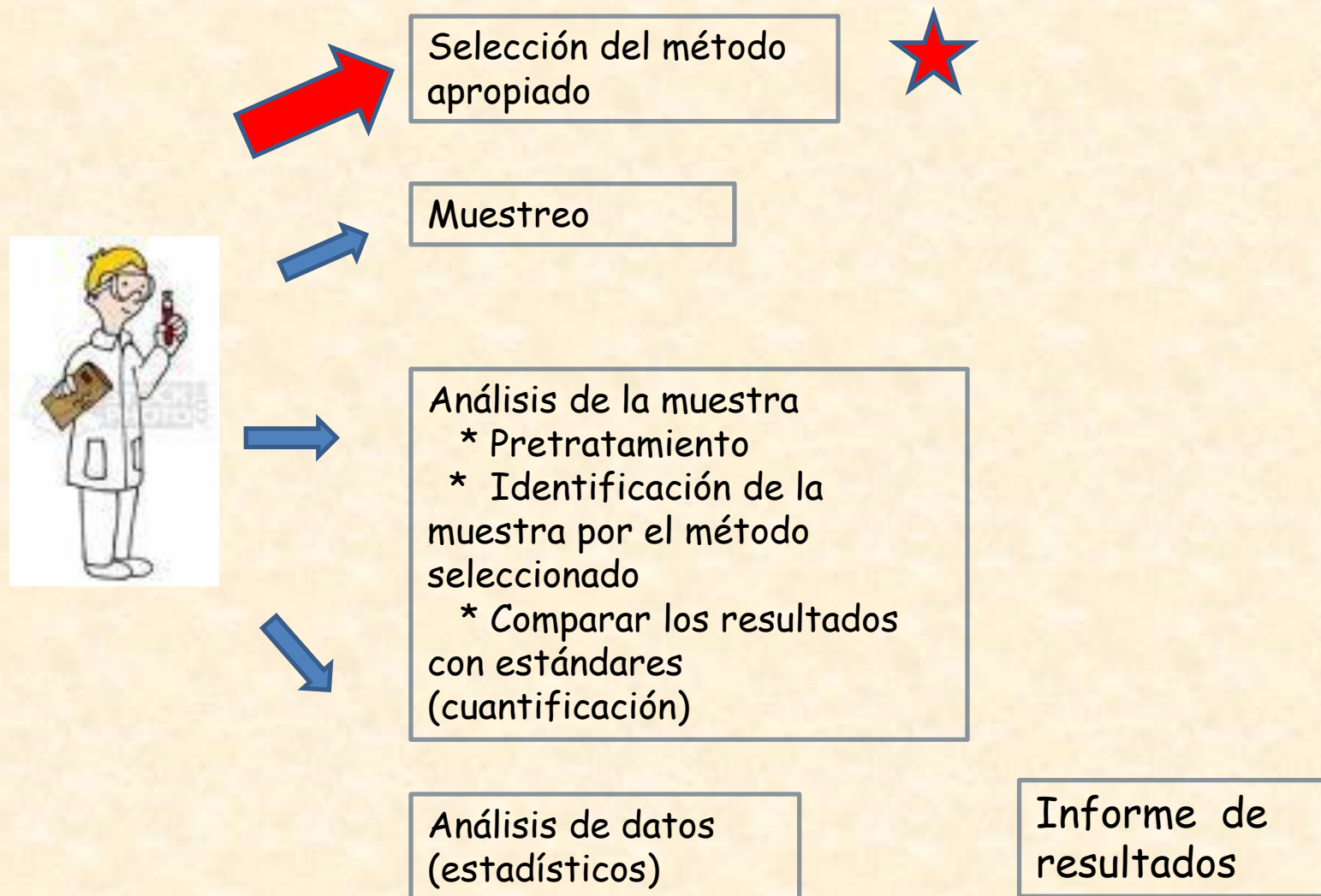


Dra. Gloria Maribel Trejo Aguilar

Procedimiento analítico

- ¿Qué necesitamos conocer?
- ¿Cómo conseguimos la información?
- ¿Estamos satisfechos?
- ¿Qué consecuencias tiene?

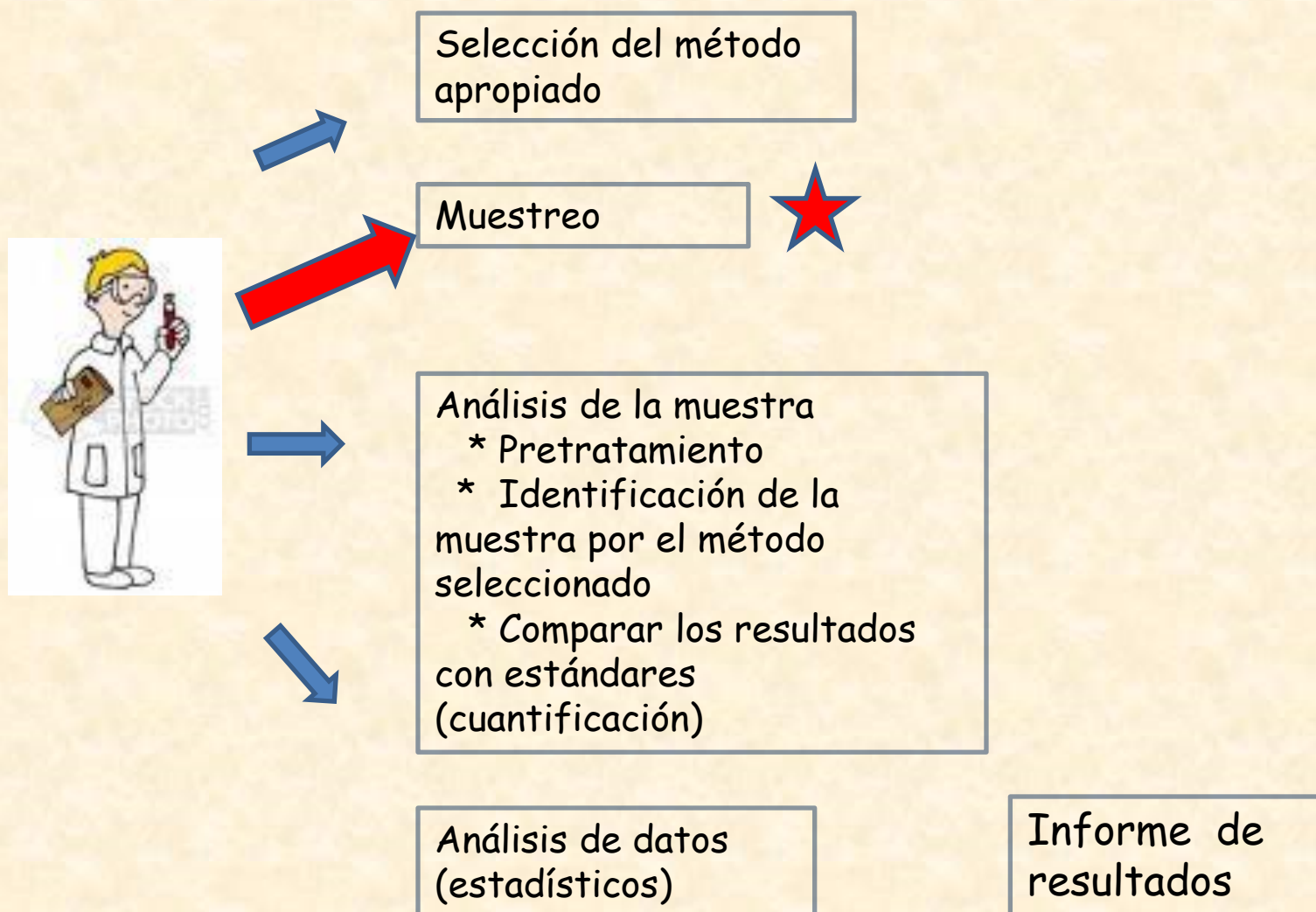
Etapas del Método Analítico



Selección del método

Método	Aplicación	Fenómeno Molecular
Cromatografía de gases	Análisis cualitativo y <u>cuantitativo</u> de compuestos orgánicos volátiles	Distribución entre una fase vapor y un soporte
Cromatografía de líquidos	Análisis cualitativo y <u>cuantitativo</u> de compuestos poco volátiles, iones y cationes	Distribución entre un líquido y un soporte
Espectrometría UV/Visible	Análisis <u>cualitativo/cuantitativo</u> en muestras biológicas y químicas	Excitación de electrones por la absorción de fotones
Espectroscopia de infrarrojo	Identificación de compuestos orgánicos e inorgánicos	Excitación de las moléculas por la absorción de fotones
Potenciometría	Concentración de protones, iones y cationes	Cambio de potencial

Etapas del Método Analítico



Muestreo: es el proceso de selección del material representativo que se va a analizar

Muestra

Representativa
Tamaño adecuado



Homogénea
Debe ser igual en todas sus partes.



Tipos de muestreo

- **Al azar:** Las unidades para el análisis son escogidas totalmente al azar.
- **Intuitivo:** Se selecciona por decisión personal la porción del material a analizar.
- **Estadístico:** Se basa en reglas estadísticas, se calcula el número mínimo de muestras suponiendo distribución gaussiana.
- **De protocolo:** Cuando se debe seguir un procedimiento de muestreo detallado en una norma ó método estándar.

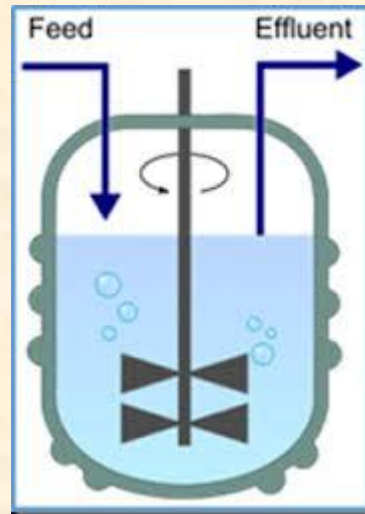
Heterogeneidad

Espacial



El objeto es diferente en extensión, profundidad, etc.

Temporal



Existen cambios variables con el tiempo

Espacial/Temporal



El objeto varía en espacio y tiempo.

Tamaños de muestra

- **Macroanálisis:** muestras mayores a 0.1g.
- **Semimicronaálisis:** muestras entre 0.01 a 0.1g.
- **Microanálisis:** muestras entre 1×10^{-4} y 1×10^{-2} g.
- **Ultramicronanálisis:** Muestras inferiores a 1×10^{-4} g.

Preparación de la muestra

- **Muestras sólidas**

Deben ser trituradas para conseguir una muestra homogénea y representativa.

- **Muestras líquidas**

Se debe coleccionar suficiente muestra para el análisis ya sea simple o compuesta.

Eliminación de interferencias

- Interferencia: son especies ajenas al analito que interfieren en el análisis.
- Se debe establecer una estrategia particular para cada tipo de muestra, como filtración, centrifugación, destilación, extracción etc.

Preservación de muestras

- **Objetivo:** retardar los cambios químicos y biológicos que continúan después de remover la muestra de la fuente.

Químicos: cambio de estructura química, formación de hidróxidos metálicos, cambio de valencia, volatilización, adsorción en el envase, etc.

Biológico: desnaturalización de proteínas, lisis celular, desactivación enzimática, etc.

Métodos de preservación

- Envase apropiado

1. Deben conservar la muestra en idénticas condiciones.
2. No desprender MO, u otros contaminantes.
3. No reaccionar.
4. Vidrio pirex (borosilicatado) lixivia lentamente Pb, Zn, Ar, Mn
5. Plásticos pueden ceder sustancias orgánicas e interferir en la determinación de plaguicidas. Algunos son permeables a gases (CO_2)

- Etiquetado adecuado

- Condiciones de preservación:

Temperatura,

Humedad

Oscuridad



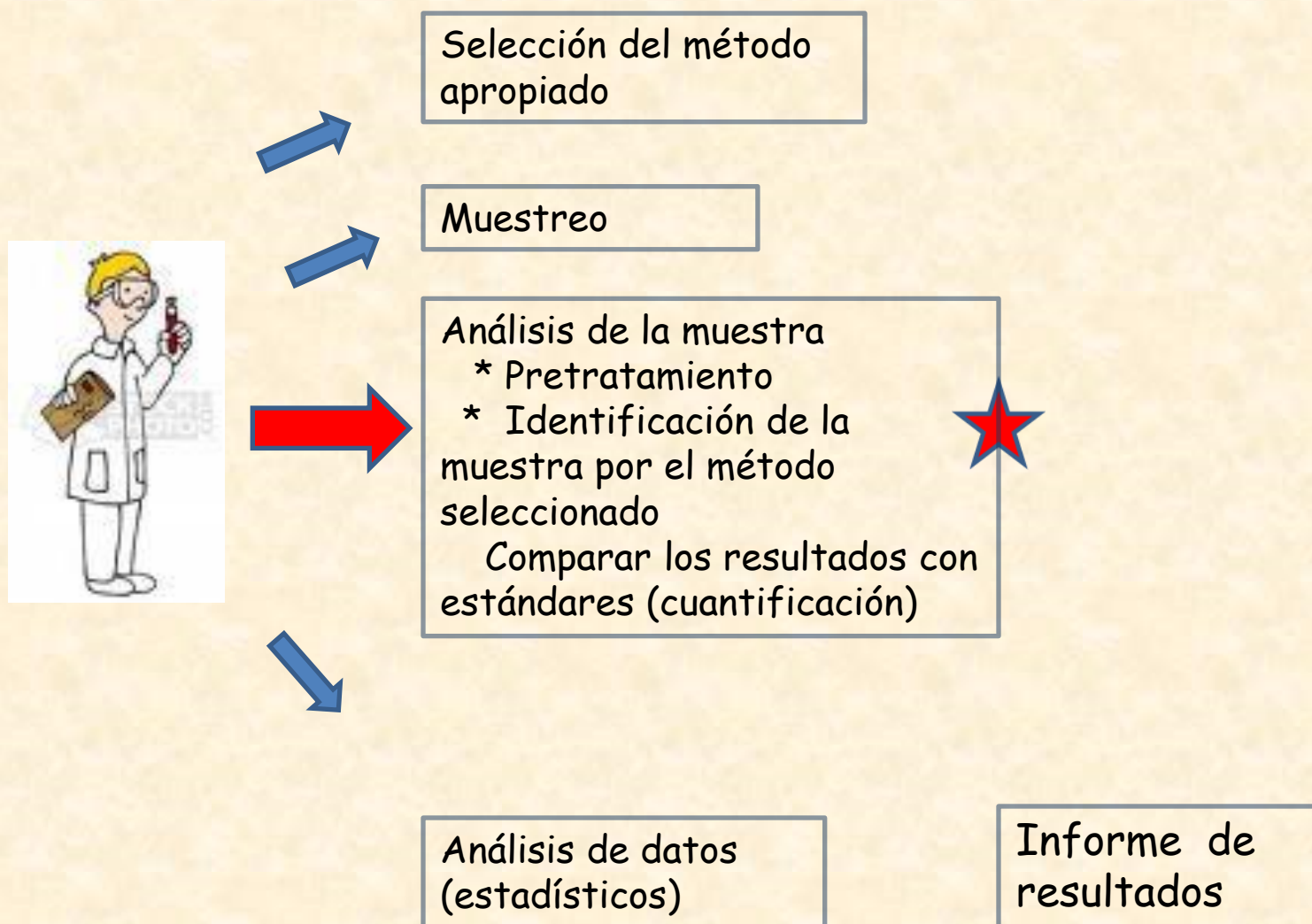
Preservación de muestras inorgánicas

TIPO DE ANÁLISIS	TIPO DE RECIPIENTE	VOLUMEN REQUERIDO	PRESERVACIÓN	TIEMPO MÁXIMO DE ALMACENAMIENTO
Analitos disueltos	Polipropileno (HDPE)	30 ml por analito	Filtrar en el sitio de recolección, acidificar con HNO_3 conc. a $\text{pH} < 2$ Temp. 4°C	6 meses
Analitos totales	Polipropileno (HDPE)	50 mL	Acidificar con HNO_3 conc. a $\text{pH} < 2$ Temp. 4°C	6 meses
Analitos suspendidos	Polipropileno (HDPE)	50 mL	Filtrar en el sitio de recolección. Temp. 4°C	6 meses
Cloruros	Vidrio o Polietileno	50 mL	No requiere	28 días
Fluoruros	Polietileno	50 mL	No requiere	28 días
Nitratos	Vidrio o Polietileno	50 mL	Analizar lo más pronto posible	48 horas
Yoduro	Vidrio o Polietileno	50 mL	Analizar inmediatamente	25 minutos
Sulfatos	Vidrio o Polietileno	50 mL	Refrigeración	28 días

Preservación de muestras orgánicas

- Congelación a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Acidificación
- Liofilización (funciona congelando el material y luego reduciendo la presión circundante para permitir que el agua congelada en el material se sublime directamente desde la fase sólida a la fase gaseosa, sin pasar por el estado líquido. preservando la estructura molecular de la sustancia liofilizada).

Etapas del Método Analítico



Pretratamiento de la muestra

Condiciones:

- Máxima recuperación sin pérdida de analito

- Eliminación de interferencias

- Intervalo de concentraciones óptimas del método seleccionado

Tratamientos frecuentes:

- Disgregación

- Disolución

- Extracción

- Filtración

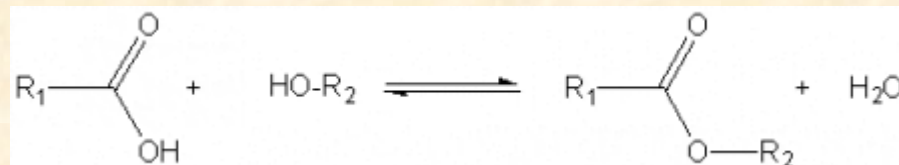
- Derivatización (esterificación de ácidos grasos)

Derivatización

Definición

- Es el proceso que consiste en modificar químicamente un compuesto para producir un derivado con nuevas propiedades que faciliten o permitan su análisis.
- Mejora la volatilidad, estabilidad térmica y la detección del analito.
- En este tipo de reacciones no se conoce la estructura de los productos. Es la reacción en si misma la que da la estructura de los derivados.

Esterificación de ácidos grasos



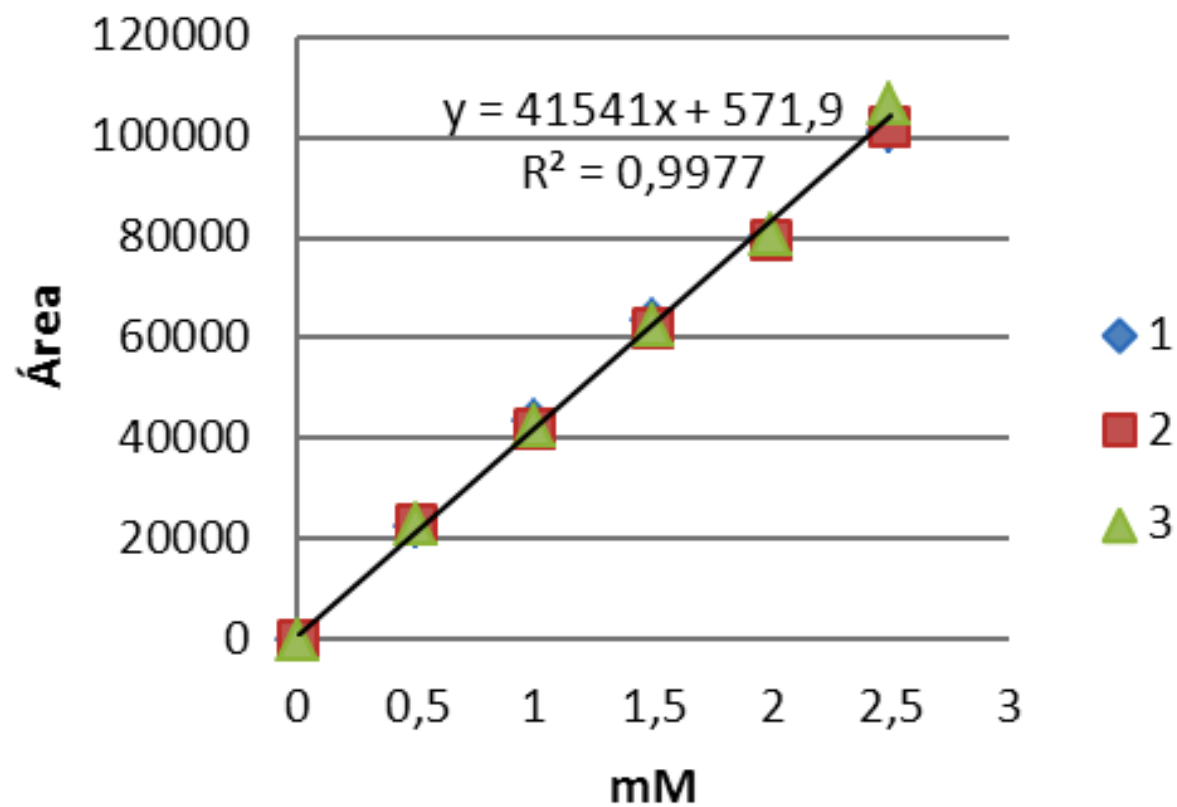
Cuantificación

- Curvas de calibración por el método del estándar externo
- Curvas de calibración por el método del estándar interno
- Normalización

Estándar externo

- Procedimiento:
- Preparar una mezcla de estándares que contengan concentraciones conocidas de los componentes de interés
- Para cada estándar construir una curva de calibración, graficando masa o concentración vs área
- Determinar la ecuación de la recta, y R^2
- Analizar las muestras bajo las mismas condiciones que los estándares
- Determinar la concentración de las muestras problema, sustituyendo en la ecuación el área para cada analito

Acético



Estándar interno

- Es la adición de una solución estándar a una muestra problema.
- La concentración del analito de interés se calcula en función a la respuesta del estándar interno
- Condiciones del estándar interno

No debe ser un componente de la muestra

Estable, no reactivo y de alta pureza

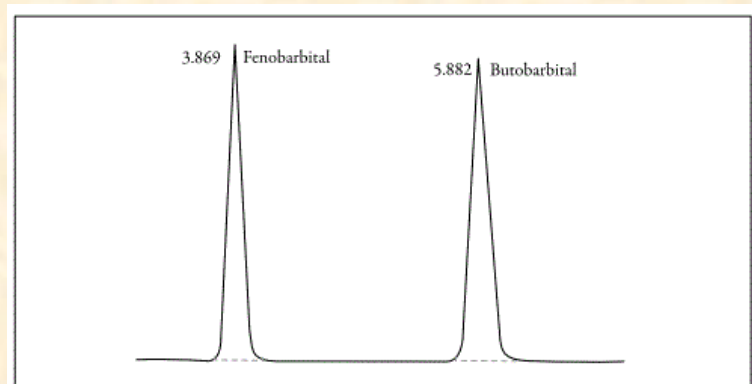


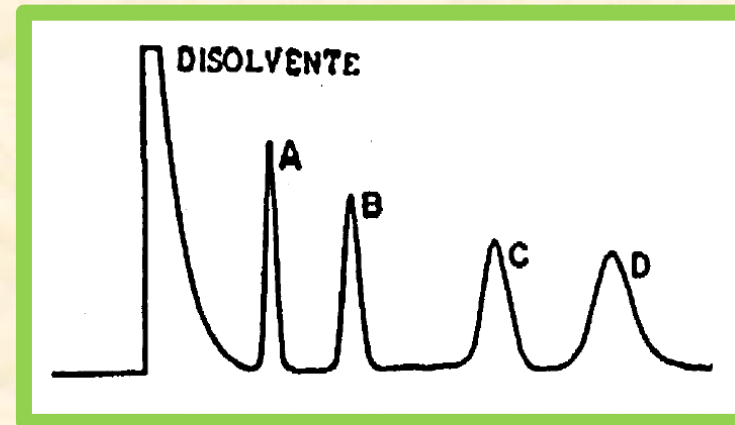
Figura 2. Cromatograma del fenobarbital estándar y del estándar interno butobarbital.

Estándar interno

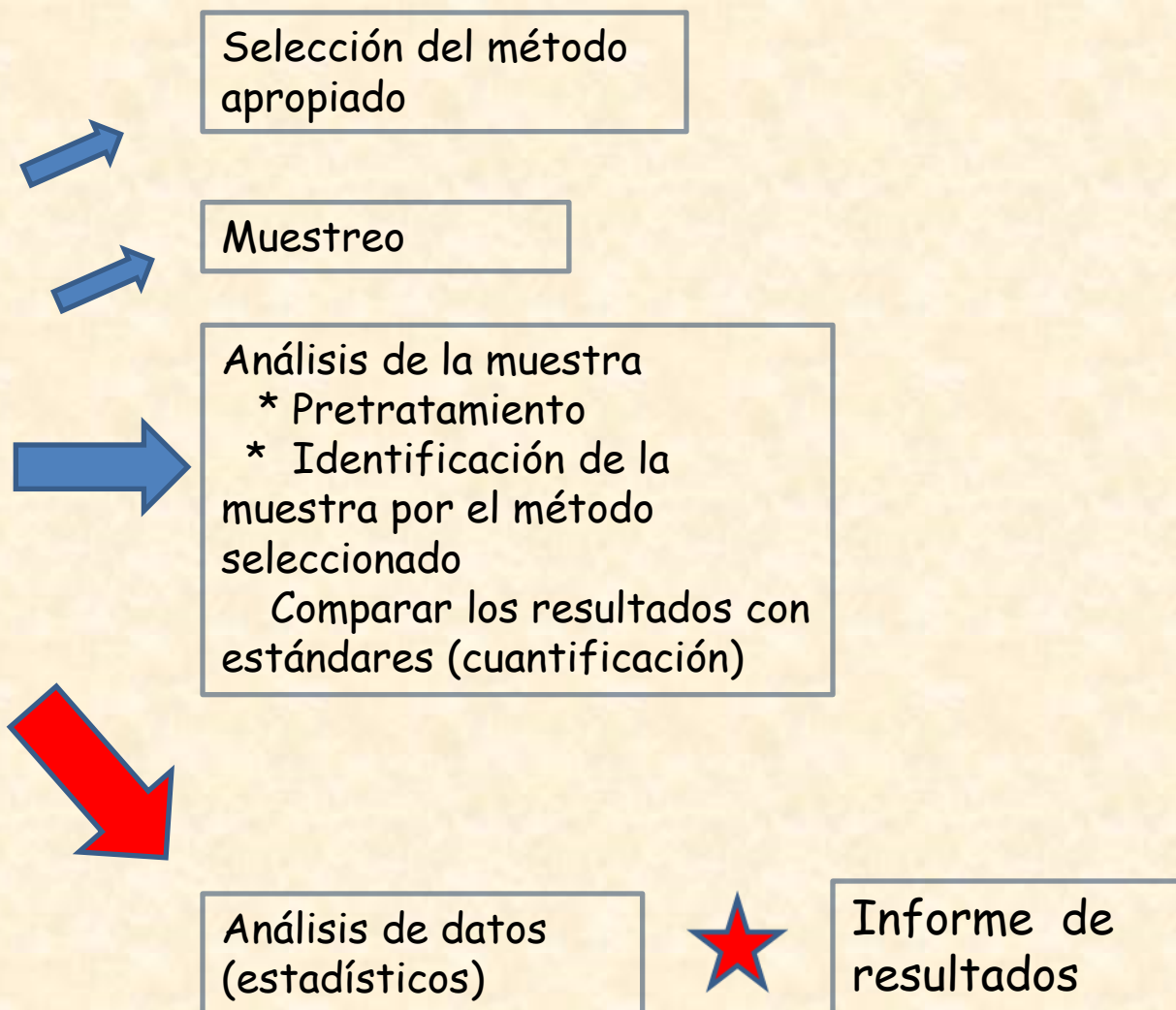
- Factor de respuesta
- $F = ([\text{analito}]/\text{área analito}) \times (\text{área estándar interno}/[\text{estándar interno}])$
- $$[\text{muestra problema}] = \frac{\text{área analito} \times F \times [\text{estándar interno}]}{\text{área estándar interno}}$$

Normalización

- Método simple
- Todos los componentes de la muestra deben ser separados.
- No es necesario conocer la cantidad exacta inyectada
- $\text{Área \%} = (A_i / \Sigma A) \times 100$
- Donde: A_i = área de un pico
 - ΣA = suma de todos los picos



Etapas del Método Analítico



Informe de resultados

Cuadro 1. Análisis químico proximal de hoja, tallo y fruto de muérdago (*C. lonicerooides*).

Componente	Hoja	Tallo g/100 g materia seca	Fruto
Cenizas	0.17 ± 0.00^1	6.59 ± 0.08	0.04 ± 0.00
Proteína cruda	19.08 ± 0.59	13.61 ± 0.3	12.65 ± 0.33
Extracto etéreo	4.22 ± 0.16	3.26 ± 0.82	28.44 ± 1.91
Fibra cruda	5.47 ± 0.37	14.80 ± 0.77	9.39 ± 0.92
Extracto libre de nitrógeno	71.07	61.73	49.48

¹Los valores mostrados representan la media de tres réplicas \pm DE.



Gracias
por su
atención