

La selectivitat en anàlisi química

Ricard Boqué

Grup de Quimiometria, Qualimetria i Nanosensors

Universitat Rovira i Virgili (Tarragona)

El concepte de selectivitat en anàlisi química ha estat recentment objecte d'una nova definició per part de la IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*). La selectivitat té una importància particular com a paràmetre de qualitat d'un mètode analític i, per tant, també s'ha de validar. En aquest article, i partint de la definició oficial, es pretén donar al lector una sèrie de pautes sobre com avaluar i solucionar la manca de selectivitat d'un mètode analític.

1. Introducció

Els paràmetres de qualitat d'un mètode analític són de vital importància per a assegurar la idoneïtat d'un mètode per a solucionar un problema analític. D'entre ells, la IUPAC, en les seves darreres recomanacions [IUPAC 2001] ha definit la selectivitat com "*l'extensió en la que un mètode pot utilitzar-se per a determinar analits particulars en mescles o matrius sense interferències d'altres components amb un comportament similar*". Per tant, i per a que sigui una eina útil per al químic analític, els valors de selectivitat haurien d'indicar fins a quin punt la concentració d'un analit predita pel mètode pot estar afectada per altres interferències presents a la mostra.

Una **interferència** és aquella substància que causa un error sistemàtic en la determinació de l'analit d'una magnitud relativa igual o superior a un valor establert. Les interferències poden distorsionar el senyal de l'analit d'interès, evitant la seva possible identificació, o provocar un **error sistemàtic**, ja sigui constant o proporcional (és a dir, depenent de la concentració d'analit a la mostra). La Figura 1 mostra l'efecte de l'error sistemàtic provocat per una interferència en la predicció (errònia) de la concentració de l'analit.

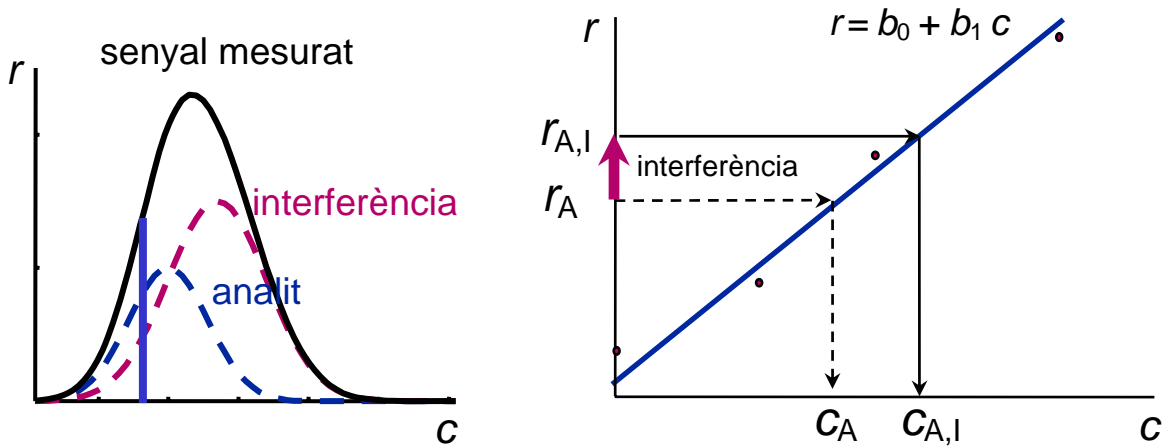


Figura 1. Efecte d'una interferència en el senyal instrumental mesurat i en la quantificació posterior de l'analit d'interès. $r_{A,I}$ i $c_{A,I}$ són la resposta real mesurada de la mostra (analit + interferent) i la corresponent concentració predita per la recta de calibratge. r_A i c_A són la resposta i la concentració predita que s'obtidrien si la interferència no hi fos. La diferència ($c_{A,I} - c_A$) és l'error sistemàtic (o biaix) en el resultat.

En presència d'una substància interferent, la resposta instrumental (o senyal) mesurada per a una mostra concreta mitjançant un determinat procediment analític pot expressar-se com:

$$r_{A,I} = r_0 + r_A + r_I \quad (1)$$

on $r_{A,I}$ és la resposta instrumental obtinguda, r_A és la resposta instrumental deguda a l'analit exclusivament, r_I és la resposta de la interferència i r_0 és una contribució constant deguda, per exemple, a la presència de reactius o dissolvents. r_0 és la resposta instrumental que s'obtidria si en la mostra no hi fossin presents ni l'analit ni la interferència. L'equació (1) es pot expressar també de la forma següent:

$$r_{A,I} = r_0 + k_A c_A + k_I c_I \quad (2)$$

on c_A és la concentració de l'analit, c_I és la concentració de la substància interferent i k_A i k_I són les sensibilitats parcials de l'analit i de la interferència, respectivament; és a dir, les respectives pendents de les funcions de calibratge. Finalment, l'equació 2 pot rescriure's com:

$$r_{A,I} = r_0 + k_A(c_A + K_{A,I}c_I) \quad (3)$$

$K_{A,I} = k_I/k_A$ és el *coeficient de selectivitat* de l'analit A respecte la substància interferent I. L'invers d'aquest valor es denomina *índex de selectivitat*.

La situació més desitjable és que $r_{A,I}$ a l'equació (1) estigui el més propera possible d' r_A . Això s'aconsegueix quan la contribució de la interferència a la resposta instrumental s'aproxima a zero, bé perquè la interferència no hi és (o la seva concentració és propera a zero) o quan el coeficient de selectivitat de la interferència és zero (o molt petit). S'observa doncs que el terme $K_{A,I}c_I$ a l'equació (3) pot introduir un biaix (o error sistemàtic) en el resultat.

En el caso d'absència d'interferència l'equació (3) es transforma en:

$$r_A = r_0 + k_A c_A \quad (4)$$

la qual té la forma clàssica de l'equació d'una línia recta, els coeficients de la qual (r_0 i k_A) poden determinar-se pels mètodes tradicionals de calibratge univariant [Riu 2003].

Comprovació de la selectivitat

S'han proposat diferents mesures per a la selectivitat [IUPAC 2001]. Quan el mètode analític comporta un calibratge univariant, la selectivitat es pot caracteritzar per una sèrie de coeficients $K_{A,I}$ per a cada interferent potencial present a la mostra [IUPAC 2002], tal i com s'ha comentat més amunt. Aquests coeficients es poden calcular determinant k_A i k_I de forma independent o mesurant $r_{A,I}$ en presència o absència de quantitats conegudes d'analit i interferent.

Dues altres formes de comprovar la selectivitat són mitjançant l'anàlisi de mostres d'assaig a les que s'han afegit interferències de forma deliberada o bé mitjançant l'ús de tècniques confirmatòries, com la cromatografia de gasos amb detecció per espectrometria de masses (GC-MS) o la cromatografia de líquids amb detecció espectrofotomètrica UV-Visible amb un detector de diodes en fila (HPLC-DAD). A la figura 2 es mostra un exemple d'això darrer.

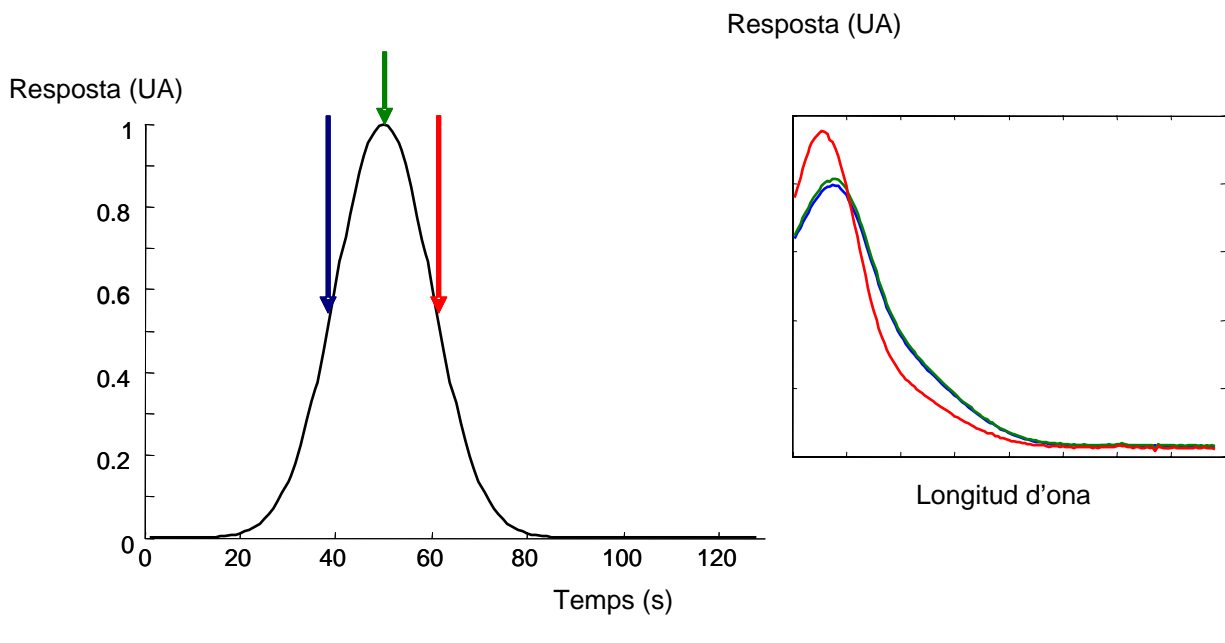


Figura 2. Pico cromatogràfic i espectres UV-Visible presos a tres temps diferents (identificats pel color). S'observa que el pic no és pur, ja que a la part final l'espectre canvia substancialment, indicant la possible presència d'un segon compost.

Compensació de les interferències

1) Interferència deguda als reactius

Correspon al terme r_0 a l'equació (3) i provoca un error sistemàtic constant. Per a la seva correcció cal una estimació independent d' r_0 , la qual s'aconsegueix amb una mesura del blanc del mètode. Un cop obtinguda r_0 , aquesta es resta d' $r_{A,i}$. Existeix també la possibilitat de no realitzar la mesura del blanc i incloure aquesta contribució com un terme independent en el model de línia recta de l'equació (4).

2) Interferència deguda a d'altres analits presents a la mostra

Correspon al terme $K_{A,i}c_i$ de l'equació (3) i provoca un error sistemàtic constant, és a dir, que no depèn de la concentració d'analit (encara que sí que depèn de la pròpia concentració de la interferència). Per minimitzar el terme $K_{A,i}c_i$ existeixen

dues alternatives, o bé minimitzar c_i o bé minimitzar $K_{A,i}$. La primera opció implica eliminar físicament o química la interferència de la mostra, per exemple mitjançant la utilització de tècniques de separació, com l'extracció, la precipitació o la cromatografia. La minimització de $K_{A,i}$ s'assoleix mitjançant l'addició d'agents emmascarants (substàncies que reaccionen amb la interferència formant una espècie química que ja no modifica la resposta de l'analit), o bé optimitzant les condicions instrumentals, per exemple mitjançant la selecció de longituds d'ona més selectives).

3) Anàlisi multicomponent

Existeix una darrera opció per compensar les interferències, que consisteix en modelar-les matemàticament [Ferré 2004]. Això ens porta a conèixer els coeficients de selectivitat de les interferències i passar del calibratge univariant (una resposta instrumental, un analit) al **calibratge multivariant i multicomponent** (múltiples respostes, múltiples analits).

Si reprenem l'equació (2), on tenim un analit i un interferent, observem que calen dos valors independents d' $r_{A,i}$ per a determinar simultàniament c_A i c_i (per a K interferents presents a la mostra necessitaríem $K+1$ valors d' $r_{A,i}$):

$$r_{A,i,1} = k_{A,1}c_A + k_{i,1}c_i + r_{0,1} \quad (5)$$

$$r_{A,i,2} = k_{A,2}c_A + k_{i,2}c_i + r_{0,2} \quad (6)$$

En el cas de mesures espectroscòpiques (p.e. UV-Visible), l'obtenció de dues respostes instrumentals independents per a la mostra s'aconseguiria mesurant a dues longituds d'ona (λ) diferents, tal i com es mostra a la Figura 3.

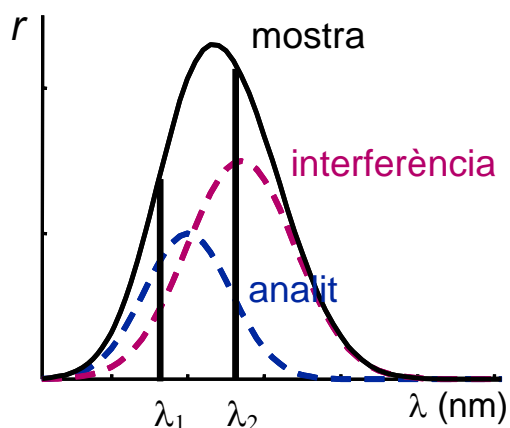


Figura 3. En espectroscòpia UV-Visible, la quantificació de la concentració d'analit en presència d'una interferència s'aconsegueix mesurant l'absorbància de la mostra a dues longituds d'ona diferents (λ_1 i λ_2).

Els coeficients k_A , k_I i r_0 a les equacions (5) i (6), de la mateixa forma que en el calibratge univariante, s'han de determinar a l'etapa de calibratge, a partir de solucions estàndard amb concentracions conegudes d'analit i interferent(s).

4) Un tipus especial d'interferència: l'efecte matriu

L'**efecte matriu** consisteix en una disminució o augment de la resposta instrumental de l'analit degut a la presència d'altres components. En altres paraules, per a la mateixa concentració d'analit, l'anàlisi d'una mostra real o d'una dissolució estàndard de l'analit pur no proporciona la mateixa resposta instrumental. L'efecte matriu provoca un error sistemàtic proporcional, és a dir, dependent de la concentració d'analit a la mostra, tal i com s'observa a la figura (4). En ella es representen dues rectes de calibratge per a la determinació mitjançant cromatografia de gasos del contingut de 2,4,6-tricloroanisol (TCA) en vins negres, una construïda amb les solucions patró de TCA i l'altra on el TCA s'ha afegit a una matriu de vi exempta de TCA. S'observa clarament la discrepància entre ambdues rectes, tant més acusada quant més gran és la concentració de TCA.

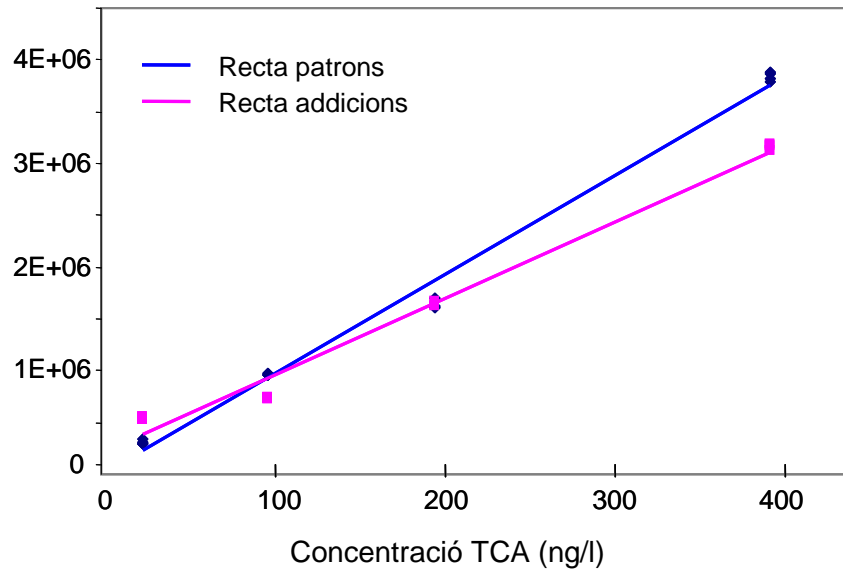


Figura 4. Recta de patrons purs i recta d'addicions estàndard (àrea del pic del TCA vs concentració) en la determinació de 2,4,6-tricloroanisol en vins negres mitjançant cromatografia de gasos.

Una possibilitat per evitar l'efecte matriu seria construir sempre la recta de calibratge prenent una mostra semblant a la mostra problema però sense l'analit a determinar (un blanc de mostra), i afegir-li llavors quantitats conegudes de l'analit per a formar solucions patró. tanmateix, aquesta aproximació resulta, en nombrosos casos, impracticable, doncs l'efecte matriu pot variar d'una mostra a una altra i, a més, pot succeir que no puguem disposar d'una mostra sense l'analit en qüestió.

La millor alternativa, tanmateix, per dur a terme el calibratge quan hi ha efecte matriu és utilitzar la tècnica de les **addicions estàndard** [Miller 2000], que consisteix en l'addició de quantitats conegudes i creixents de l'analit a la pròpia mostra problema, la lectura de les corresponents respostes instrumentals i la posterior construcció de la recta d'addicions estàndard. La quantificació de l'analit es realitza per extrapolació de la recta de calibratge al punt de l'eix d'abscisses on la resposta és zero. L'inconvenient més gran d'aquesta tècnica és que cal construir una recta d'addicions estàndard per a cada mostra que vulguem analitzar, la qual cosa suposa un incremento substancial en el volum de treball del laboratori.

Conclusions

En aquest article hem vist que la selectivitat és un paràmetre de qualitat fonamental de qualsevol mètode analític, doncs afecta de forma directa a un altre paràmetre clau, l'exactitud. La manca de selectivitat, deguda a la presència de substàncies interferents, provoca errors sistemàtics en els resultats d'assaig. Hem vist també que el químic analític disposa de diferents opcions per aconseguir una major selectivitat, ja sigui mitjançant l'eliminació directa de les interferències, mitjançant l'optimització de les condicions experimentals i/o instrumentals o bé mitjançant l'anàlisi multicomponent i la utilització del calibratge multivariant.

Referències bibliogràfiques

- Ferré, J. Calibratge multivariant en anàlisi quantitativa. El model directe. *Notícies per a Químics*, 429 (2006) 14-17.
- IUPAC. Selectivity in Analytical Chemistry, *Pure & Applied Chemistry*, 73 (2001) 1381-1386.
- IUPAC. Harmonized Guidelines for Single-Laboratory Validation of Methods of Analysis, *Pure & Applied Chemistry*, 74 (2002) 835-855.
- Miller NM, Miller JC. *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*, 4^a ed. Prentice Hall, Madrid, 2000.
- Riu J, Boqué R. Calibratge lineal. *Notícies per a Químics*, 419 (2004) 12-15.

L'autor agraeix tots els comentaris relacionats amb els continguts de l'article.

Poden dirigir-se, mitjançant correu electrònic, a l'adreça: ricard.boque@urv.net

Una versió en suport electrònic de l'article, així com informació suplementària, pot trobar-se a: <http://www.quimica.urv.net/quimio>