

La selectividad en análisis químico

Ricard Boqué

Grupo de Quimiometría y Cualimetría
Universidad Rovira i Virgili (Tarragona)

El concepto de selectividad en análisis químico ha sido objeto de una redefinición reciente por parte de la IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*). La selectividad tiene una importancia particular como parámetro de calidad de un método analítico y, por lo tanto, también debe validarse. En este artículo, y partiendo de la definición oficial, se pretende dar al lector una serie de pautas sobre cómo evaluar y solventar la falta de selectividad de un método analítico.

1. Introducción

Los parámetros de calidad de un método analítico son de vital importancia para asegurar la idoneidad de un método para solucionar un problema analítico. De entre ellos, la IUPAC, en sus últimas recomendaciones [IUPAC 2001] ha definido la selectividad como “*la extensión en la que un método puede utilizarse para determinar analitos particulares en mezclas o matrices sin interferencias de otros componentes con un comportamiento similar*”. Por lo tanto, y para que sea una herramienta útil para el químico analítico, los valores de selectividad deberían indicar hasta que punto la concentración de un analito predicha por el método puede estar afectada por otras interferencias presentes en la muestra.

Una **interferencia** es aquella sustancia que causa un error sistemático en la determinación del analito de una magnitud relativa igual o superior a un valor establecido. Las interferencias pueden distorsionar la señal del analito de interés, evitando su posible identificación, o provocar un **error sistemático**, ya sea constante o proporcional (es decir, dependiente de la concentración de analito en la muestra). La Figura 1 muestra el efecto del error sistemático provocado por una interferencia en la predicción (errónea) de la concentración del analito.

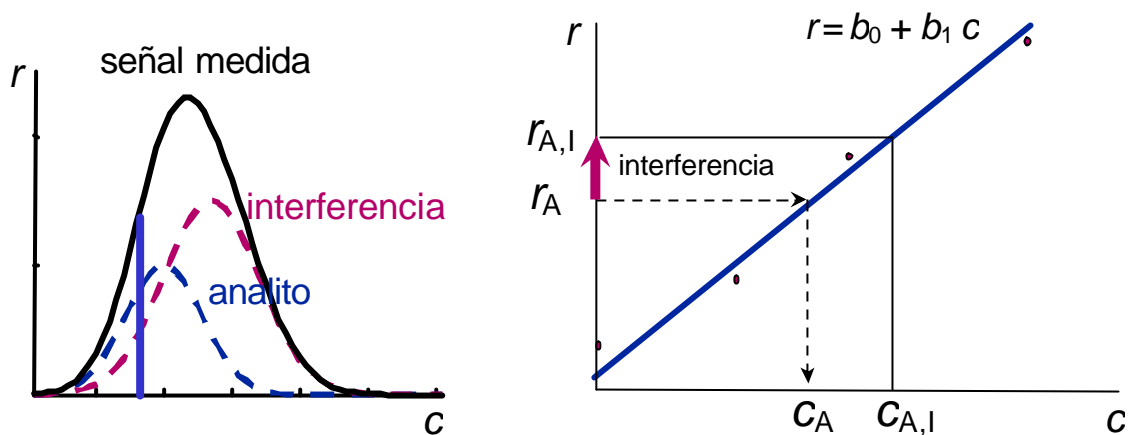


Figura 1. Efecto de una interferencia en la señal instrumental medida y en la posterior cuantificación del analito de interés. $r_{A,I}$ y $c_{A,I}$ son la respuesta real medida para la muestra (analito + interferente) y la correspondiente concentración predicha por la recta de calibrado. r_A y c_A son la respuesta y la concentración predicha que se obtendrían si la interferencia no estuviera presente. La diferencia ($c_{A,I} - c_A$) es el error sistemático (o sesgo) en el resultado.

En presencia de una sustancia interferente, la respuesta instrumental (o señal) medida para una muestra concreta mediante un determinado procedimiento analítico puede expresarse como:

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

donde $r_{A,I}$ es la respuesta instrumental obtenida, r_A es la respuesta instrumental debida al analito exclusivamente, r_I es la respuesta de la interferencia y r_0 es una contribución constante debida, por ejemplo, a la presencia de reactivos o disolventes. r_0 es la respuesta instrumental que se obtendría si en la muestra no estuvieran presentes ni el analito ni la interferencia. La ecuación (1) se puede expresar también de la siguiente forma:

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

donde c_A es la concentración del analito, c_I es la concentración de la sustancia interferente y k_A y k_I son las sensibilidades parciales del analito y de la

interferencia, respectivamente; es decir, las respectivas pendientes de las funciones de calibrado. Finalmente, la ecuación 2 puede describirse como:

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

$K_{A,I} = k_I/k_A$ es el *coeficiente de selectividad* del analito A con respecto a la sustancia interferente I. El inverso de este valor se denomina *índice de selectividad*.

La situación más deseable es que $r_{A,I}$ en la ecuación (1) esté lo más cerca posible de r_A . Esto se consigue cuando la contribución de la interferencia a la respuesta instrumental se aproxima a cero, bien porque la interferencia no está presente (o su concentración es cercana a cero) o cuando el coeficiente de selectividad de la interferencia es cero (o muy pequeño). Se observa pues que el término $K_{A,I}c_I$ en la ecuación (3) puede introducir un sesgo (o error sistemático) en el resultado.

En el caso de ausencia de interferencia la ecuación (3) se transforma en:

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

la cual tiene la forma clásica de la ecuación de una línea recta, los coeficientes de la cual (r_0 y k_A) pueden determinarse por los métodos tradicionales de calibración univariante [Riu 2003].

Comprobación de la selectividad

Se han propuesto diferentes medidas para la selectividad [IUPAC 2001]. Cuando el método analítico comporta una calibración univariante, la selectividad se puede caracterizar por una serie de coeficientes $K_{A,I}$ para cada interferente potencial presente en la muestra [IUPAC 2002], tal como se ha comentado arriba. Dichos coeficientes se pueden calcular determinando k_A y k_I de forma independiente o midiendo $r_{A,I}$ en presencia o ausencia de cantidades conocidas de analito e interferente.

Otras formas de comprobar la selectividad es mediante el análisis de muestras de ensayo a las que se han añadido interferencias de forma deliberada o bien

mediante la utilización de técnicas confirmatorias, como la cromatografía de gases con detección por espectrometría de masas (GC-MS) o la cromatografía de líquidos con detección espectrofotométrica UV-Visible con un detector de diodos en fila (HPLC-DAD). En la figura 2 se muestra un ejemplo de esto último.

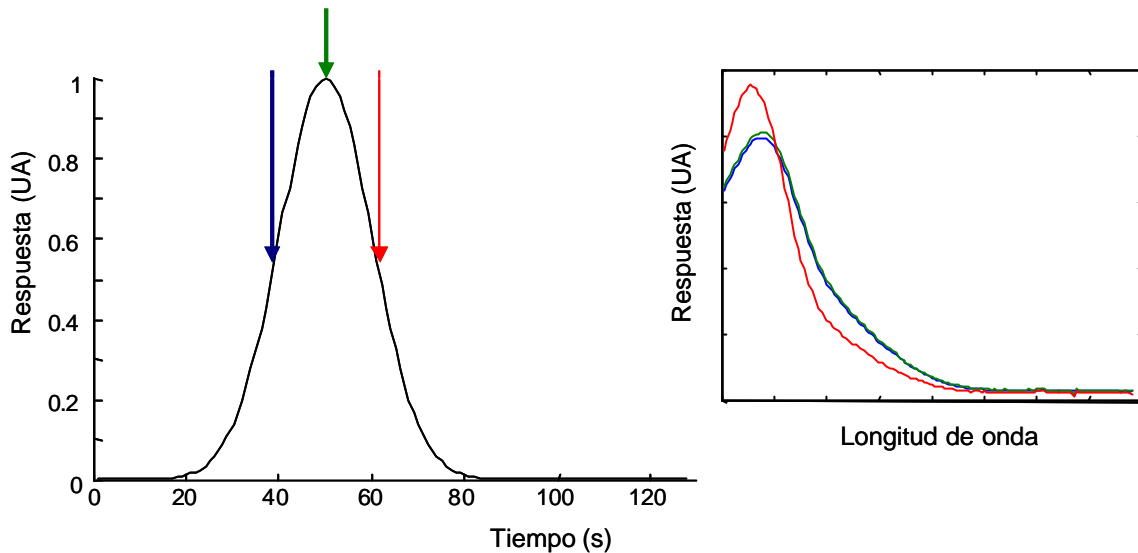


Figura 2. Pico cromatográfico y espectros UV-Visible tomados a tres tiempos diferentes (identificados por el color). Se observa que el pico no es puro, pues en la parte final el espectro cambia sustancialmente, indicando la posible presencia de un segundo compuesto.

Compensación de las interferencias

1) Interferencia debida a los reactivos

Corresponde al término r_0 en la ecuación (3) y provoca un error sistemático constante. Para su corrección se necesita una estimación independiente de r_0 , la cual se consigue con una medida del blanco del método. Una vez obtenida r_0 , ésta se resta de $r_{A,l}$. Existe también la posibilidad de no realizar la medida del blanco e incluir dicha contribución como un término independiente en el modelo de línea recta de la ecuación (4).

2) Interferencia debida a otros analitos presentes en la muestra

Corresponde al término $K_{A,I}c_I$ en la ecuación (3) y provoca un error sistemático constante, es decir, que no depende de la concentración de analito (aunque sí depende de la propia concentración de la interferencia). Para minimizar el término $K_{A,I}c_I$ existen 2 alternativas, o bien minimizar c_I o bien minimizar $K_{A,I}$. La primera opción implica eliminar física o químicamente la interferencia de la muestra, por ejemplo mediante la utilización de técnicas de separación, como la extracción, la precipitación o la cromatografía. La minimización de $K_{A,I}$ se consigue mediante la adición de agentes enmascarantes (sustancias que reaccionan con la interferencia formando una especie que ya no modifica la respuesta del analito), o bien optimizando las condiciones instrumentales, por ejemplo mediante la selección de longitudes de onda más selectivas).

3) *Análisis multicomponente*

Existe una última opción para compensar las interferencias, que consiste en modelarlas matemáticamente [Ferré 2004]. Esto nos lleva a conocer los coeficientes de selectividad de las interferencias y pasar de la calibración univariante (una respuesta instrumental, un analito) a la **calibración multivariante** y multicomponente (múltiples respuestas, múltiples analitos).

Si retomamos la ecuación (2), donde tenemos un analito y un interferente, observamos que se necesitan dos valores independientes de $r_{A,I}$ para determinar simultáneamente c_A y c_I (para K interferentes presentes en la muestra necesitaríamos $K+1$ valores de $r_{A,I}$):

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

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

En el caso de medidas espectroscópicas (p.e. UV-Visible), la obtención de dos respuestas instrumentales independientes para la muestra se conseguiría midiendo a dos longitudes de onda (λ) distintas, tal como muestra la figura (3).

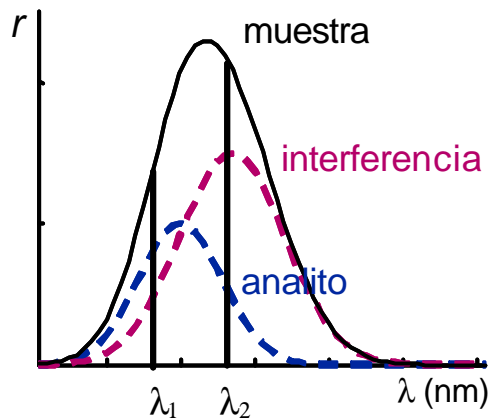


Figura 3. En espectroscopia UV-Visible, la cuantificación de la concentración de analito en presencia de una interferencia se consigue midiendo la absorbancia de la muestra a dos longitudes de onda distintas (λ_1 y λ_2).

Los coeficientes k_A , k_I y r_0 en las ecuaciones (5) y (6), al igual que en la calibración univariante, deben determinarse en la etapa de calibración, a partir de soluciones estándar con concentraciones conocidas de analito e interferente.

4) Un tipo especial de interferencia: el efecto matriz

El **efecto matriz** consiste en una disminución o aumento de la respuesta instrumental del analito debido a la presencia de otros componentes. En otras palabras, para la misma concentración de analito, el análisis de una muestra real o de una disolución estándar del analito puro no proporciona la misma respuesta instrumental. El efecto matriz provoca un error sistemático proporcional, es decir, dependiente de la concentración de analito en la muestra, tal como se observa en la figura (4). En ella se representan dos rectas de calibrado para la determinación mediante cromatografía de gases del contenido de 2,4,6-tricloroanisol (TCA) en vinos tintos, una construida con las soluciones patrón de TCA y otra donde el TCA se ha añadido a una matriz de vino libre de TCA. Se observa claramente la discrepancia entre ambas rectas, tanto más acusada cuanto mayor es la concentración de TCA.

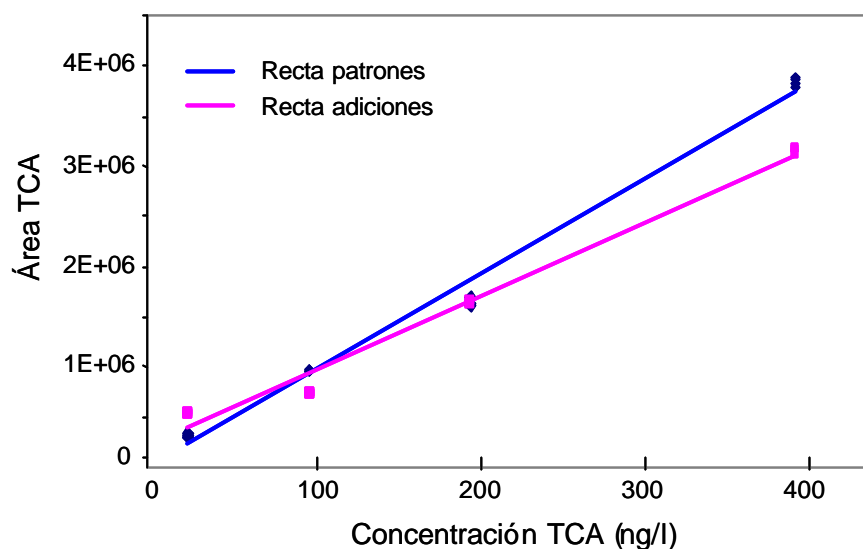


Figura 4 Recta de patrones puros y recta de adiciones estándar en la determinación de 2,4,6-tricloroanisol en vinos tintos mediante cromatografía de gases.

Una posibilidad para evitar el efecto matriz sería construir siempre la recta de calibrado tomando una muestra parecida a la muestra problema pero libre del analito a determinar (un blanco de muestra), y añadirle cantidades conocidas del analito para formar soluciones patrón. Sin embargo, esta aproximación resulta, en numerosos casos, impracticable, pues el efecto matriz puede variar de una muestra a otra y además, puede que no podamos disponer de una muestra sin el analito en cuestión.

La mejor alternativa, sin embargo, para soslayar el efecto matriz es utilizar la técnica de las **adiciones estándar** [Miller 2000], que consiste en la adición de cantidades conocidas y crecientes del analito a la propia muestra problema, la lectura de las correspondientes respuestas instrumentales y la posterior construcción de la recta de adiciones estándar. La posterior cuantificación del analito se realiza por extrapolación de la recta de calibrado al punto del eje de abscisas donde la respuesta es cero. El mayor inconveniente de esta técnica es que necesitamos construir una recta de adiciones estándar para cada muestra que queramos analizar, lo cual supone un incremento sustancial en el volumen de trabajo del laboratorio.

Conclusiones

En este artículo hemos visto que la selectividad es un parámetro de calidad fundamental de cualquier método analítico, pues afecta de forma directa a otro parámetro clave, la exactitud. La falta de selectividad, debida a la presencia de sustancias interferentes, provoca errores sistemáticos en los resultados de ensayo. Hemos visto también que el químico analítico dispone de diferentes opciones para conseguir una mayor selectividad, ya sea mediante la eliminación directa de las interferencias, mediante la optimización de las condiciones experimentales y/o instrumentales o bien mediante el análisis multicomponente y el uso de la calibración multivariante.

Referencias bibliográficas

- Ferré, J. *Técnicas de Laboratorio*, 297 (2004) 986-989.
- 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*, 4ª ed. Prentice Hall, Madrid, 2000.
- Riu J, Boqué R. *Técnicas de Laboratorio*, 284 (2003) 676-680.

El autor agradece todos los comentarios relacionados con los contenidos de este artículo. Pueden dirigirse, mediante mensaje electrónico, a la dirección:

ricard.boque@urv.net

Una versión en soporte electrónico de este artículo e información suplementaria puede encontrarse en:

<http://www.quimica.urv.es/quimio>