



Análise Instrumental I

Aula 1: Introdução

Professores da disciplina: Laís Canniatti Brazaca e Emanuel Carrilho

Ano: 2023/01

A química analítica

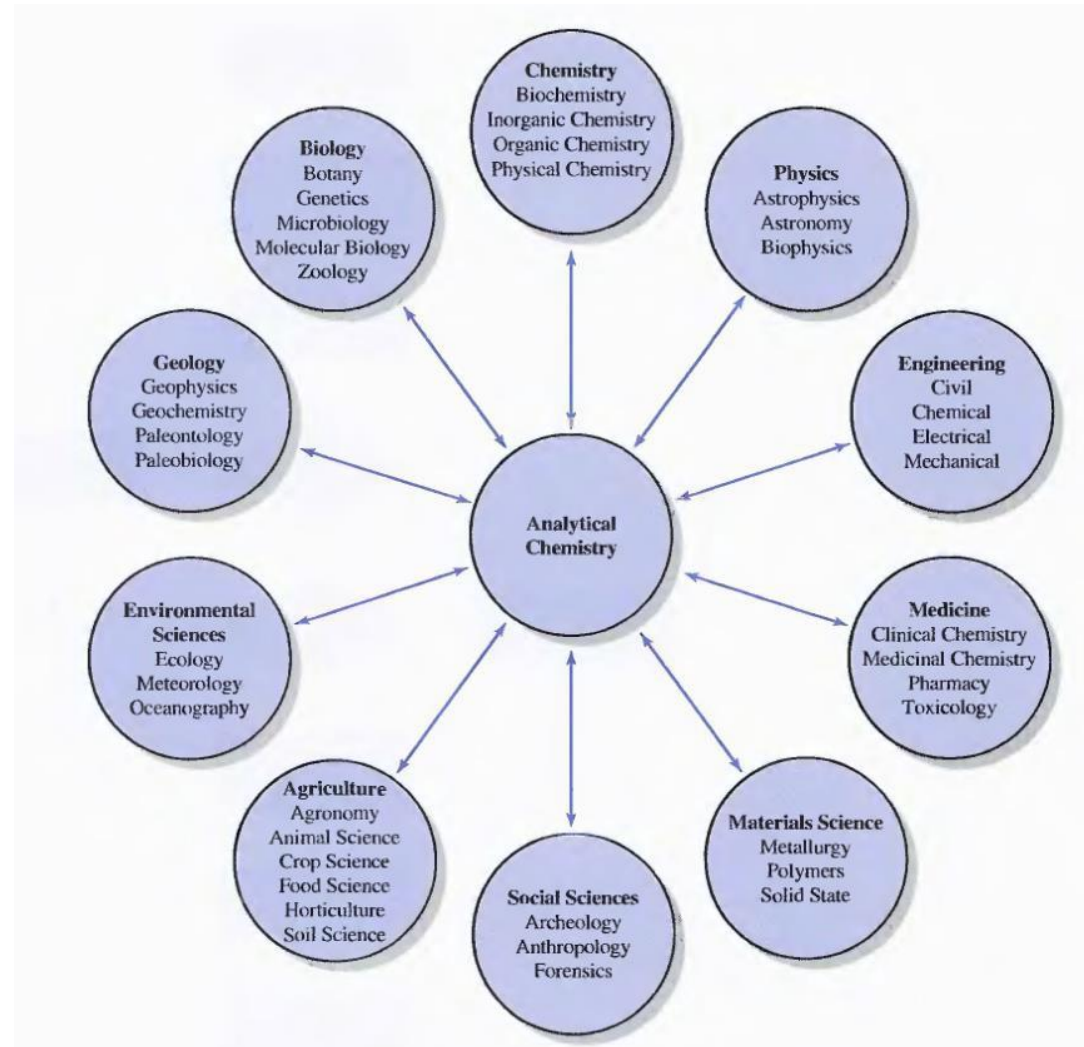
- O que é química analítica?

A química analítica

- O que é química analítica?

Química analítica é a ciência de obter, processar e comunicar informações sobre a composição e a estrutura da matéria. Em outras palavras, é a ciência de determinar o que a matéria é.

A química analítica



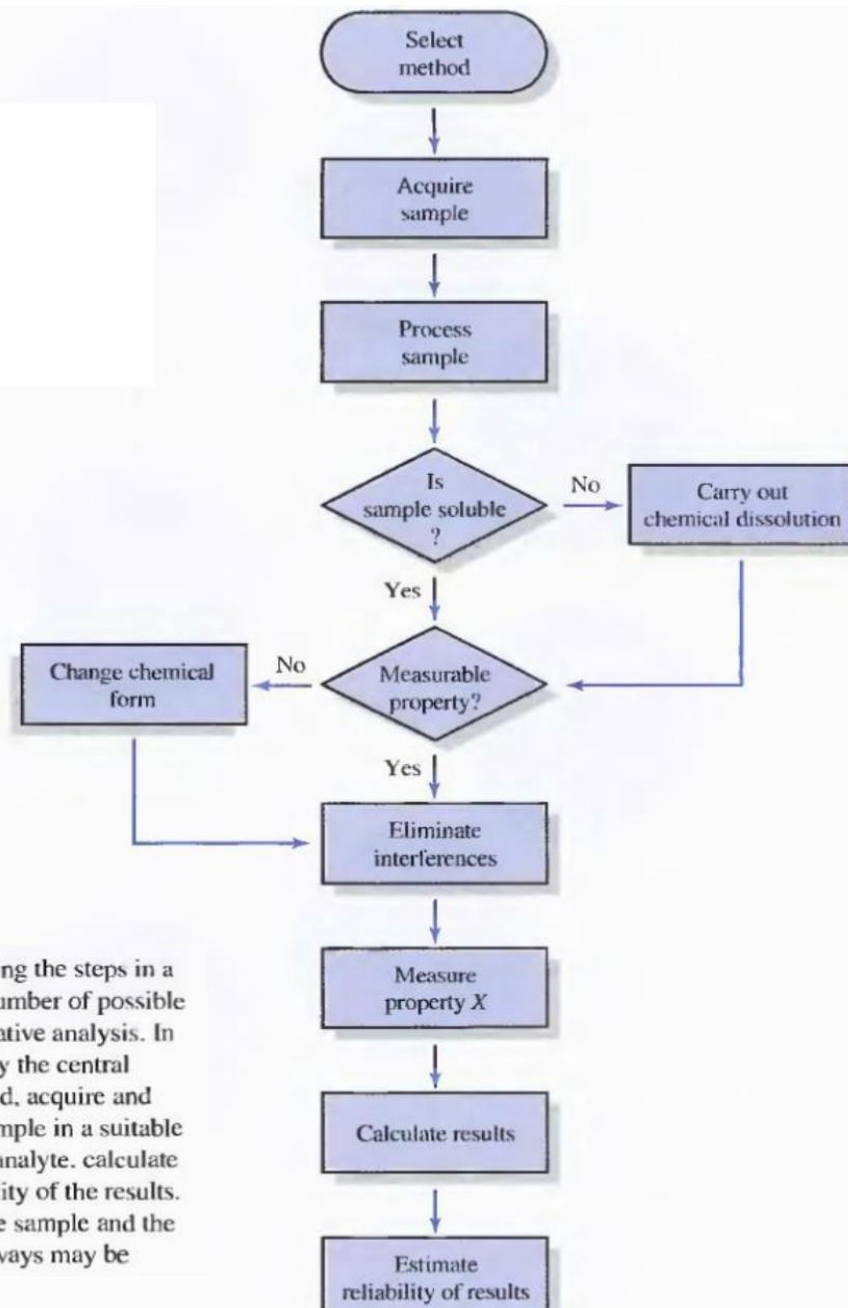


Figure 1-2 Flow diagram showing the steps in a quantitative analysis. There are a number of possible paths through the steps in a quantitative analysis. In the simplest example represented by the central vertical pathway, we select a method, acquire and process the sample, dissolve the sample in a suitable solvent, measure a property of the analyte, calculate the results, and estimate the reliability of the results. Depending on the complexity of the sample and the chosen method, various other pathways may be

Por que estudar química analítica?

- A diferença entre “O analista” e “O químico analítico”

Por que estudar química analítica?

- A diferença entre “O analista” e “O químico analítico”

The Analytical Chemist

The Analytical Chemist is specialized in providing reliable methods and tools for answering four basic questions about a material sample: What? Where? How much? What arrangement, structure or form?

The Analyst

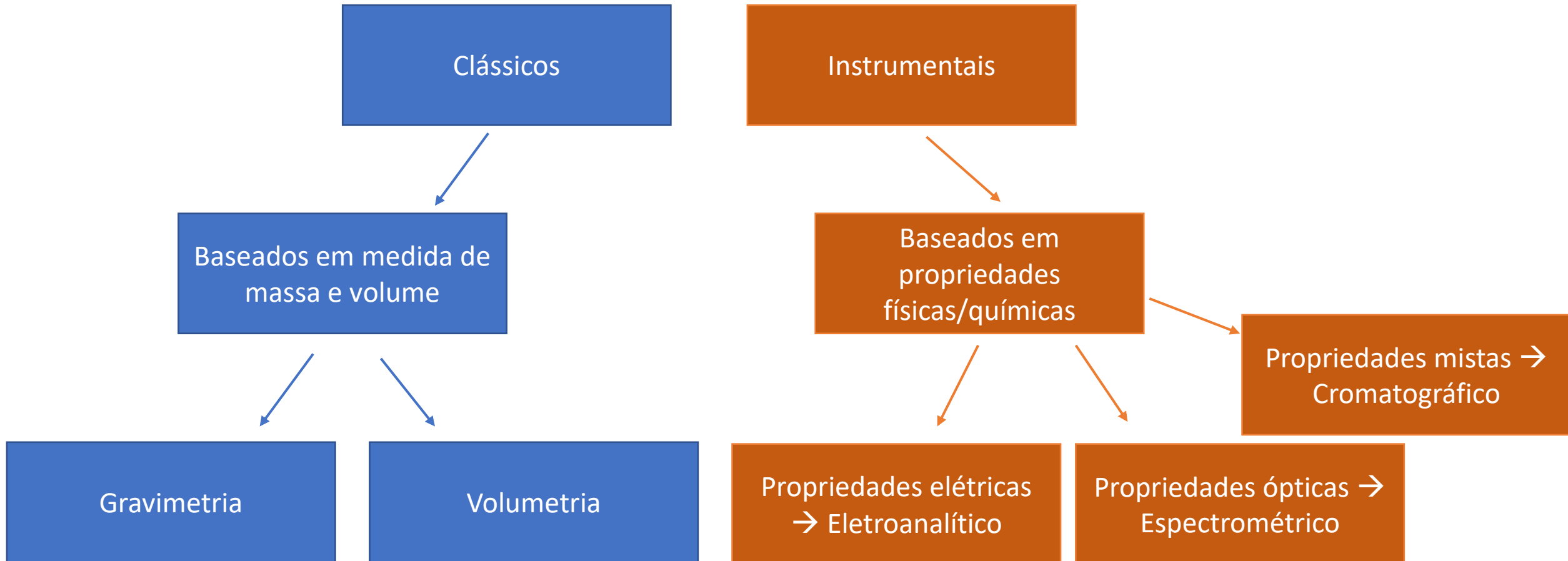
The Analyst is the user of the analytical methods and instruments developed by the Analytical Chemist to yield reliable and true results if clearly given instructions are properly followed. The Analyst can be any trained person who performs the test and runs the needed measuring instruments in a reliable fashion. In a certain way, any analytical method including the necessary instrumentation can be regarded as a rifle (constructed by the Analytical Chemist) such that every hunter (Analyst) can hit the center of the target (obtaining the right result) without being an expert in ballistics (Analytical Chemistry).

A química analítica

Clássicos

Instrumentais

A química analítica



Conceitos importantes (Glossário)

- Analito
- Matriz
- Amostra
- Interferente
- Branco
- Ruído
- Sinal de fundo (background)
- Análise
- Determinação

Conceitos importantes

- Técnica: “...é qualquer princípio físico ou químico que pode ser usado para estudar um analito”.

“O princípio em que um grupo de métodos se baseia”

- Método:

“...é a aplicação de uma técnica para a determinação de um analito específico, em uma matriz específica”

Fontes:

David Harvey, Modern Analytical Chemistry, McGraw Hill, 2000.

F.W. Fifield and D. Kealey, Principles and Practice of Analytical Chemistry, Chapman & Hall, 4th ed, 1995

Conceitos importantes

- Procedimento: “... é um conjunto de instruções escritas detalhando como aplicar um método a uma amostra específica, incluindo informações sobre amostragem adequada, manuseio de interferentes e validação de resultados...”
- Protocolo: “É um conjunto de orientações escritas detalhando os procedimentos que devem ser seguidos para que a agência especificando os protocolos aceite o resultado das análises”

O processo analítico

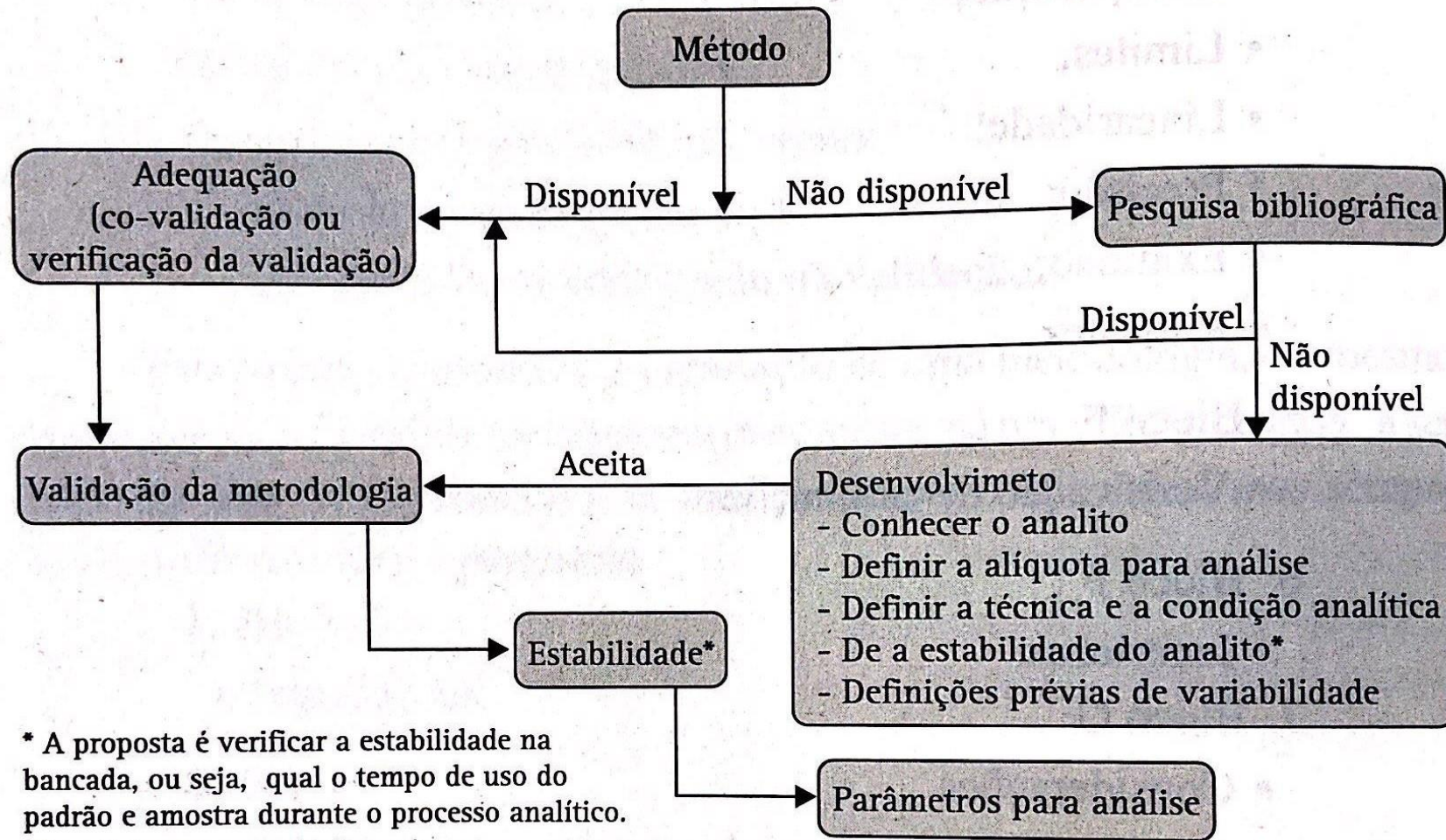
1. Definir o problema
2. Obter uma amostra representativa
3. Preparar a amostra
4. Fazer a medição
5. Calcular o resultado

1. Definir o problema

- Qual a informação necessária?
- O que se deseja saber sobre a amostra?

Escolha do método analítico:

- Habilidades/treinamento do analista
- Técnicas e instrumentos a serem usados
- Sensibilidade e precisão requeridos
- Custo e orçamento disponível
- Tempo disponível para a análise e urgência para a obtenção dos resultados
- Tipo de amostra



* A proposta é verificar a estabilidade na bancada, ou seja, qual o tempo de uso do padrão e amostra durante o processo analítico.
Obs.: O tempo pesquisado será o obtido durante o processo de validação do método.

2. Obter uma amostra representativa

- Amostragem

- Amostra bruta → Amostra de laboratório → Amostra analítica
- Combinação de amostras
 - “Statistics of sampling”
- Redução de tamanho para amostra de laboratório
 - Quarteamento, trituração
- Fluidos biológicos/particularidades de cada amostra
 - Tipo de amostra: sangue, urina, tecidos, outros
 - Jejum
 - Frações separadas: sangue total, plasma, soro, papa de hemácias
 - Anticoagulantes, aditivos para coagulação

2. Obter uma amostra representativa

- Decomposição/estabilidade
 - Temperatura, tempo, conservantes, pH
 - Adsorção nas paredes do frasco (traços)
- Exemplo: sangue

3. Preparar a amostra

- Quantidade de amostra analisada (massa, volume):
 - Exemplos: 2 g de leite em pó, 80 μL de plasma
- Replicatas
- Amostras orgânicas e inorgânicas
 - Trituração
 - Dissolução
 - Abertura
 - Digestão
 - Extração
- Brancos (especialmente para traços e ultra-traços)

4. Fazer a medição

- Escolha da técnica e método
 - Clássicas
 - Mais baratas;
 - Instrumentais
 - Mais sensíveis;
 - Mais rápidas
 - Maior diversidade de aplicações

5. Calcular o resultado

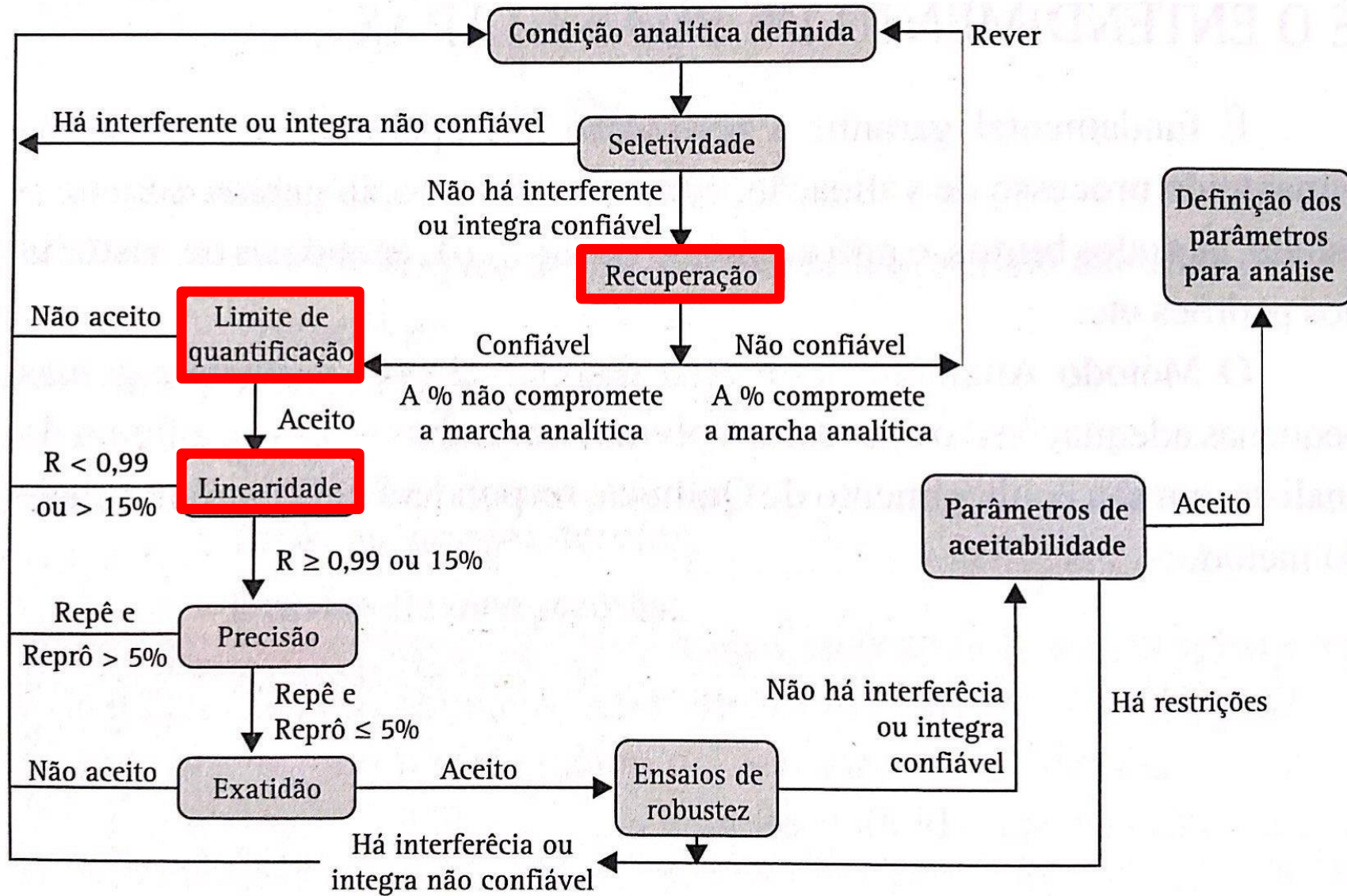
- Absolutas → Não necessitam de calibração. Ex.: gravimetria de precipitação
- Relativa → Necessitam de calibração. Ex.: Espectroscopia UV-Vis
- Precisão (replicatas)

Validação de um método

- Tipos de erro
 - Grosseiros
 - Determinados/sistemáticos → operador, reagente, equipamento, método
 - Indeterminados/aleatórios → distribuição gaussiana em torno da média
- Algarismos significativos e operações (propagações de erros)
- Standard reference materials (SRM)/MRC ou padrão de referência
- Cartas de controle de qualidade

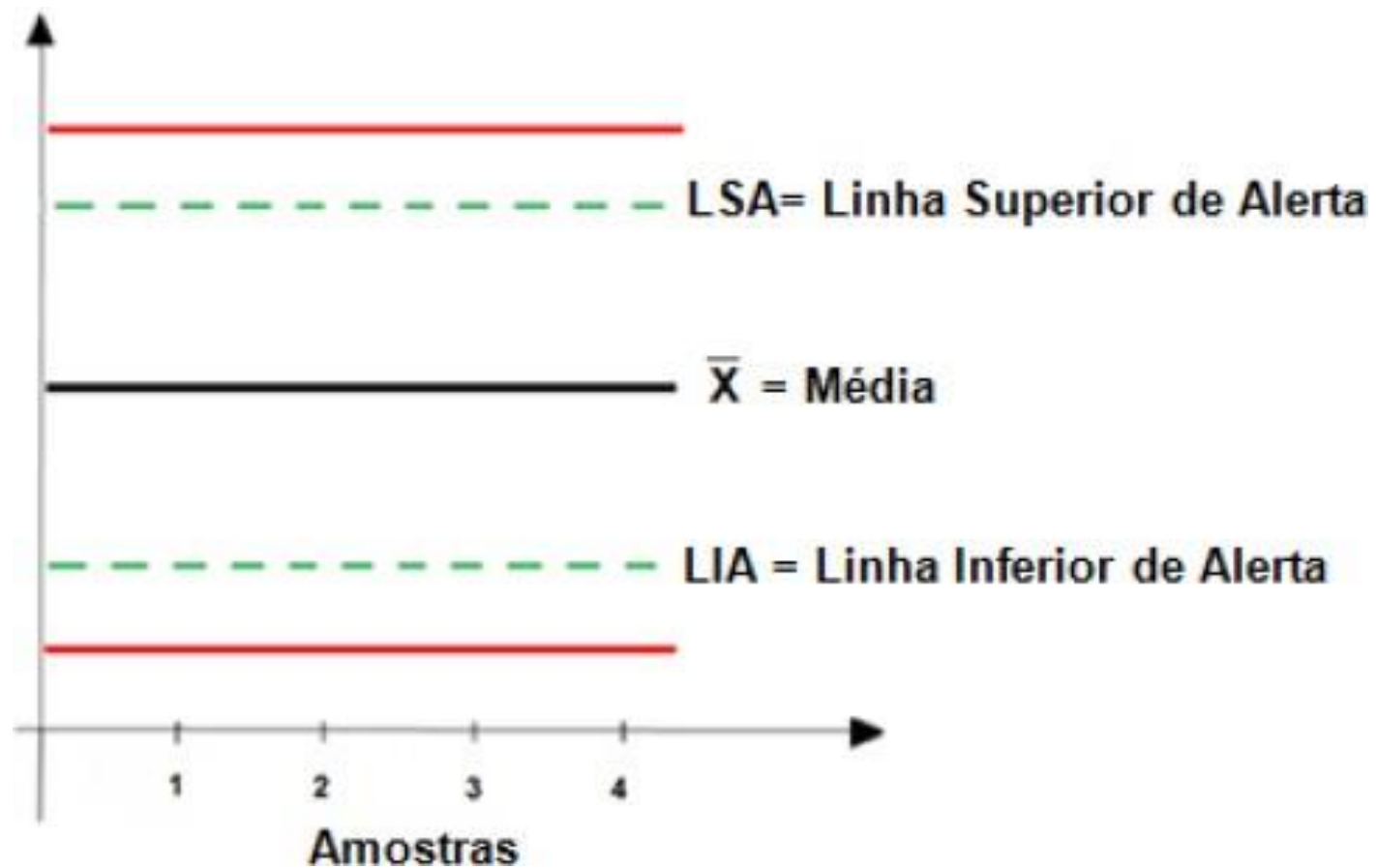
Validação de um método

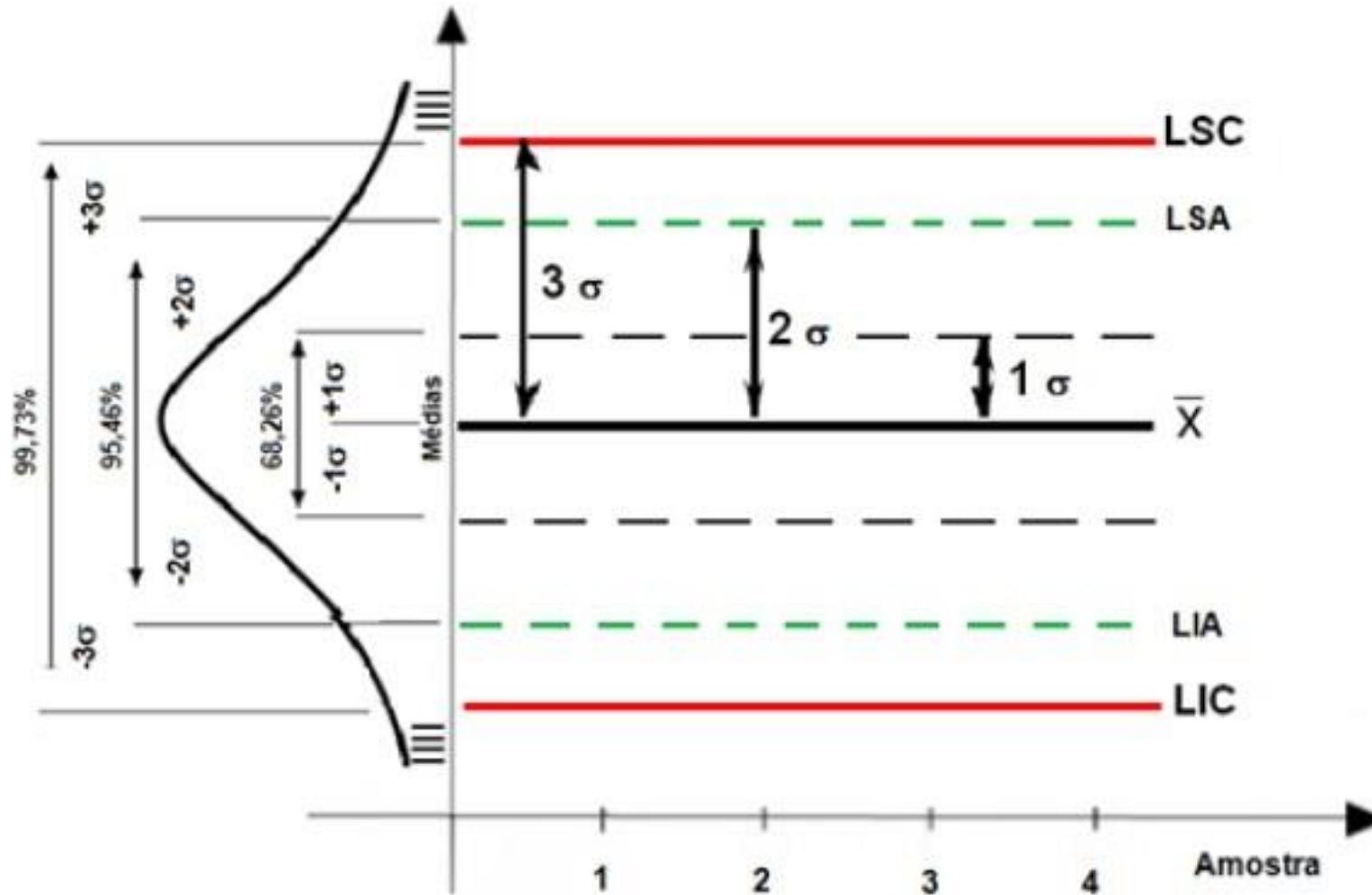
- Testes de significância: teste F, teste t, etc.
- Rejeição de resultados: teste Q, teste de Grubbs
- Parâmetros importantes:
 - Seletividade
 - Limites de detecção e quantificação
 - Linearidade (calibração)
 - Precisão (CV)/intervalo de confiança
 - Exatidão
 - Robustez
 - Parâmetros de aceitabilidade

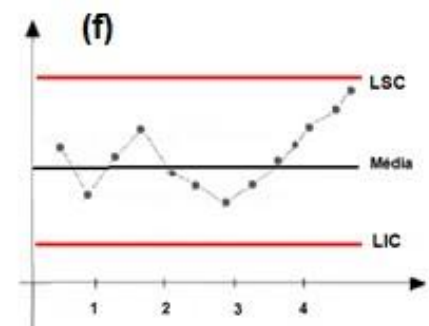
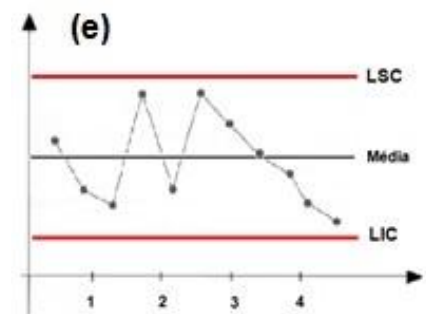
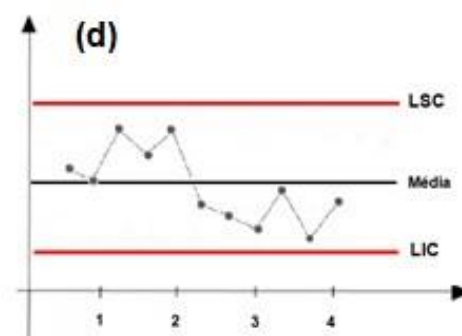
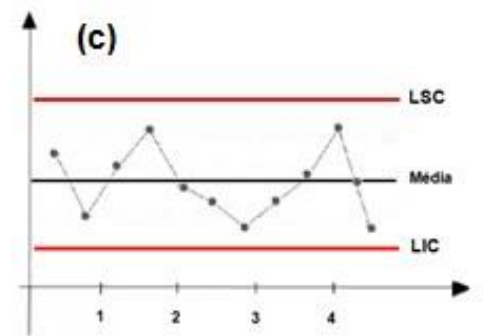
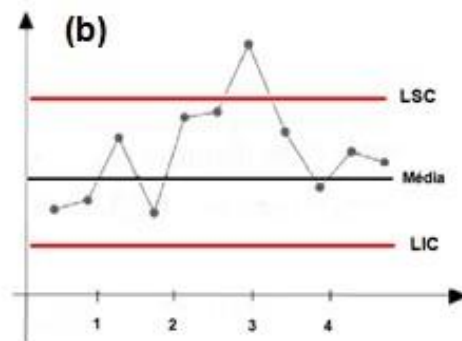
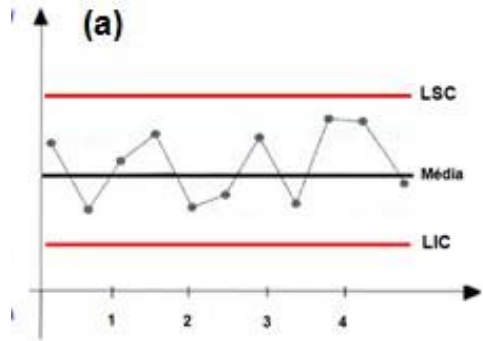


Fonte: Flávio Leite, Validação em Análise Química, Ed. Átomo, 5ª ed., 2008.

Gráficos / cartas de controle







• Exemplos de limite de controle:

a) Processo sob controle

b) Processo fora do controle

c) Processo com periodicidade

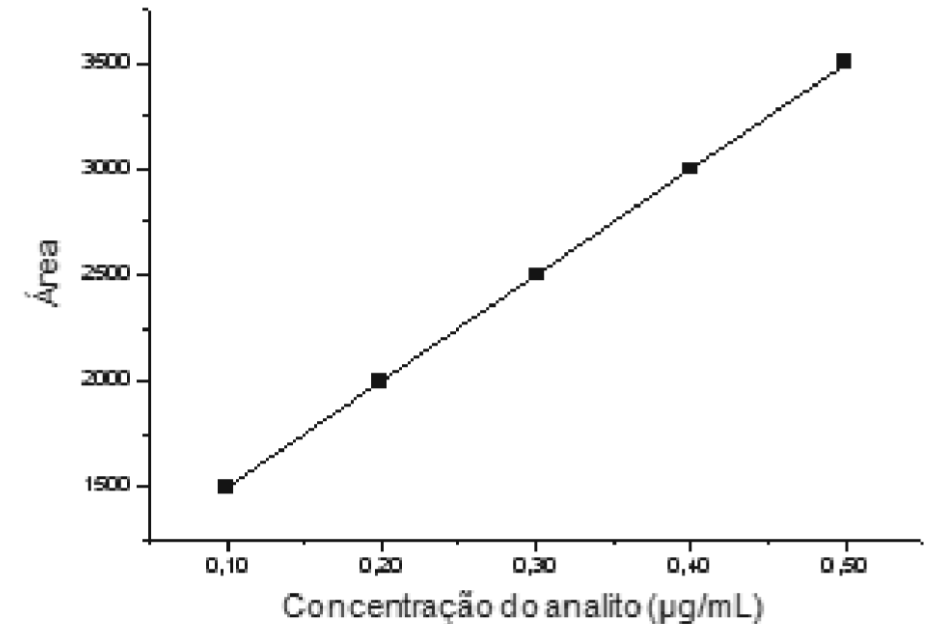
d) Processo com estratificação

e) Processo com tendência decrescente

f) Processo com tendência crescente

Curva de calibração

- Modelo matemático que estabelece uma relação entre a resposta instrumental e a concentração do analito;
- Métodos de padronização: melhor exatidão possível, além de um elevado nível de precisão;
- Padronização externa
- Padronização interna
- Padronização por adição de padrão



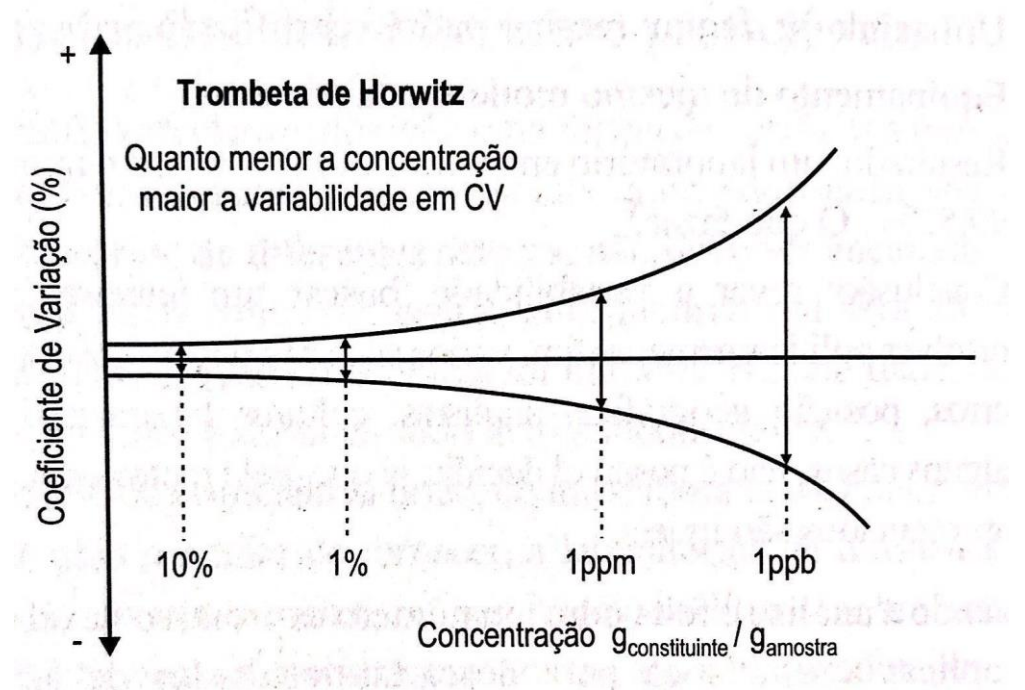
Precisão e exatidão

- Principais critérios utilizados para julgar a qualidade de um método analítico

$$s = \sqrt{\frac{(x_i - \bar{x})^2}{N - 1}}$$

$$\text{DPR (\%)} \text{ ou } \text{CV (\%)} = \frac{s}{\bar{x}} \times 100$$

$$\text{Exatidão (\%bias)} = \left(\frac{x_i - x}{x} \right) \times 100$$



Limites de detecção

- Método visual

- Utilizado para determinar o limite de detecção utilizando a matriz com adição de concentrações conhecidas da substância de interesse, de tal modo que se possa distinguir entre ruído e sinal analítico pela visualização da menor concentração visível (detectável). Este procedimento também pode ser feito através do instrumento utilizando parâmetros de detecção no método de integração.

- Método da relação sinal-ruído

- Este método pode ser aplicado somente em procedimentos analíticos que mostram o ruído da linha de base. Para determinar a relação sinal-ruído, é feita a comparação entre a medição de amostras em baixas concentrações conhecidas do composto de interesse na matriz e um branco (matriz isenta do composto de interesse) destas amostras. Assim, é estabelecida uma concentração mínima na qual a substância pode ser facilmente detectada. A relação sinal-ruído pode ser de 3:1 ou 2:1, proporções geralmente aceitas como estimativas do limite de detecção.

Limites de detecção

- Método baseado em parâmetros da curva analítica
 - O limite de detecção (LD) pode ser expresso como:

$$LD = 3,3 * s/S$$

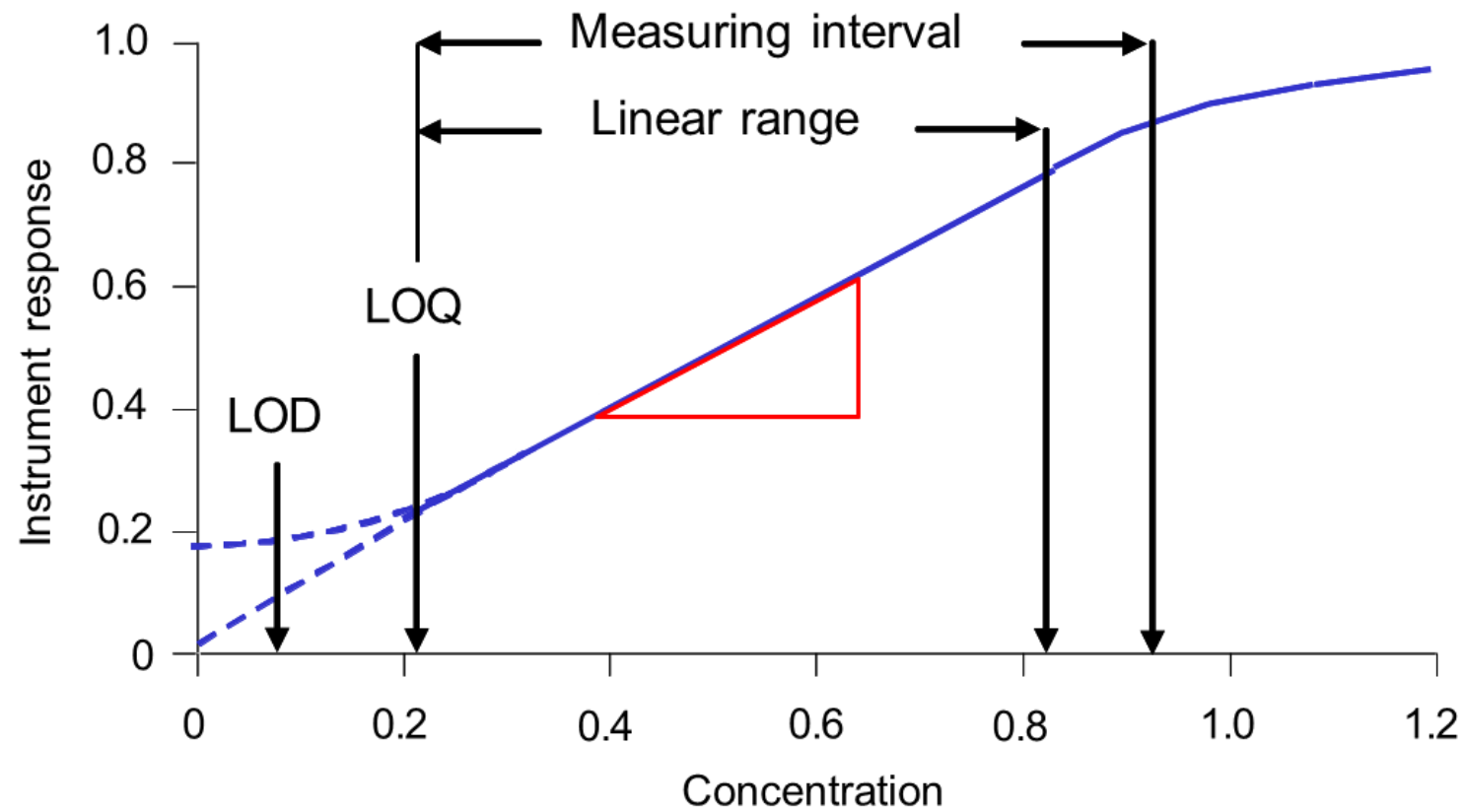
Onde s é a estimativa do desvio padrão da amostra, que pode ser a estimativa do desvio padrão do branco, da equação da linha de regressão ou do coeficiente linear da equação e S é o coeficiente angular (“slope”) ou da curva analítica.

Limites de quantificação

- O LQ pode ser calculado de maneira semelhante ao LD, utilizando a relação 10:1.
 - Método visual
 - Relação sinal-ruído
 - Métodos baseados em parâmetros da curva analítica

$$LQ = 10 * s/S$$

Curva de calibração



Atividade

- 1) Quais as diferenças entre a Química Analítica Clássica e a Química Analítica Instrumental? Cite técnicas pertencentes a cada uma delas, assim como suas vantagens e desvantagens.
- 2) Quais as principais etapas de uma análise química?
- 3) O que são técnicas analíticas absolutas e relativas? Dê exemplos;
- 4) Para que serve a validação de um método analítico? Quais são alguns dos parâmetros importantes nesta etapa e o que significam?
- 5) Para que serve e como se compõe uma carta de controle?
- 6) Como calcular o limite de detecção e o limite de quantificação de um método analítico?
- 7) Ao construir uma curva de calibração: quando deve ser utilizada a padronização interna? E a padronização por adição de padrão?