Dip. Scienze del Farmaco

2026-2027

Metodologie Analitiche Avanzate in Chimica Farmaceutica

MAACF

4 CFU = 32 ore frontali

2 CFU = 30 ore di laboratorio

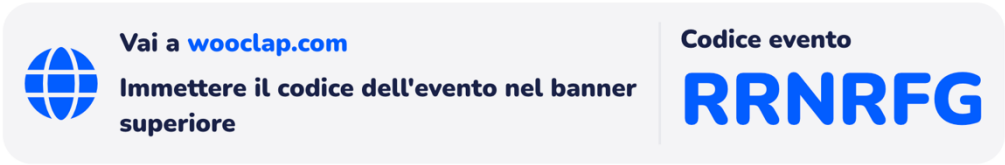
Alice Sosic

alice.sosic@unipd.it

PAROLE CORRELATE ALL'ANALITICA

https://app.wooclap.com/RRNRFG?from=status-bar





Definizione tradizionale:

La **Chimica Analitica** è quella parte della Chimica, pura e applicata, che si occupa della determinazione del tipo (analisi qualitativa) o della quantità (analisi quantitativa) dei componenti di un materiale o di una miscela

Nuova definizione:

L ’**Analitica** è una disciplina scientifica che sviluppa ed applica metodi, strumenti e strategie per ottenere informazioni sulla composizione e natura della materia nello spazio e nel tempo

[Euroanalysis VII, 1993, Edinburgh, UK]



L' Analitica ha uno **sviluppo interdisciplinare** che coinvolge molti ed innovativi campi della scienza e della tecnologia



Analitica farmaceutica

In un'analisi le informazioni richieste sono sia qualitative che quantitative

- **Analisi qualitativa:** stabilisce l'*identità* chimica delle specie nel campione
- **Analisi quantitativa:** indica la *quantità* di ciascuna specie nel campione

❑ **Analisi bioanalitiche**

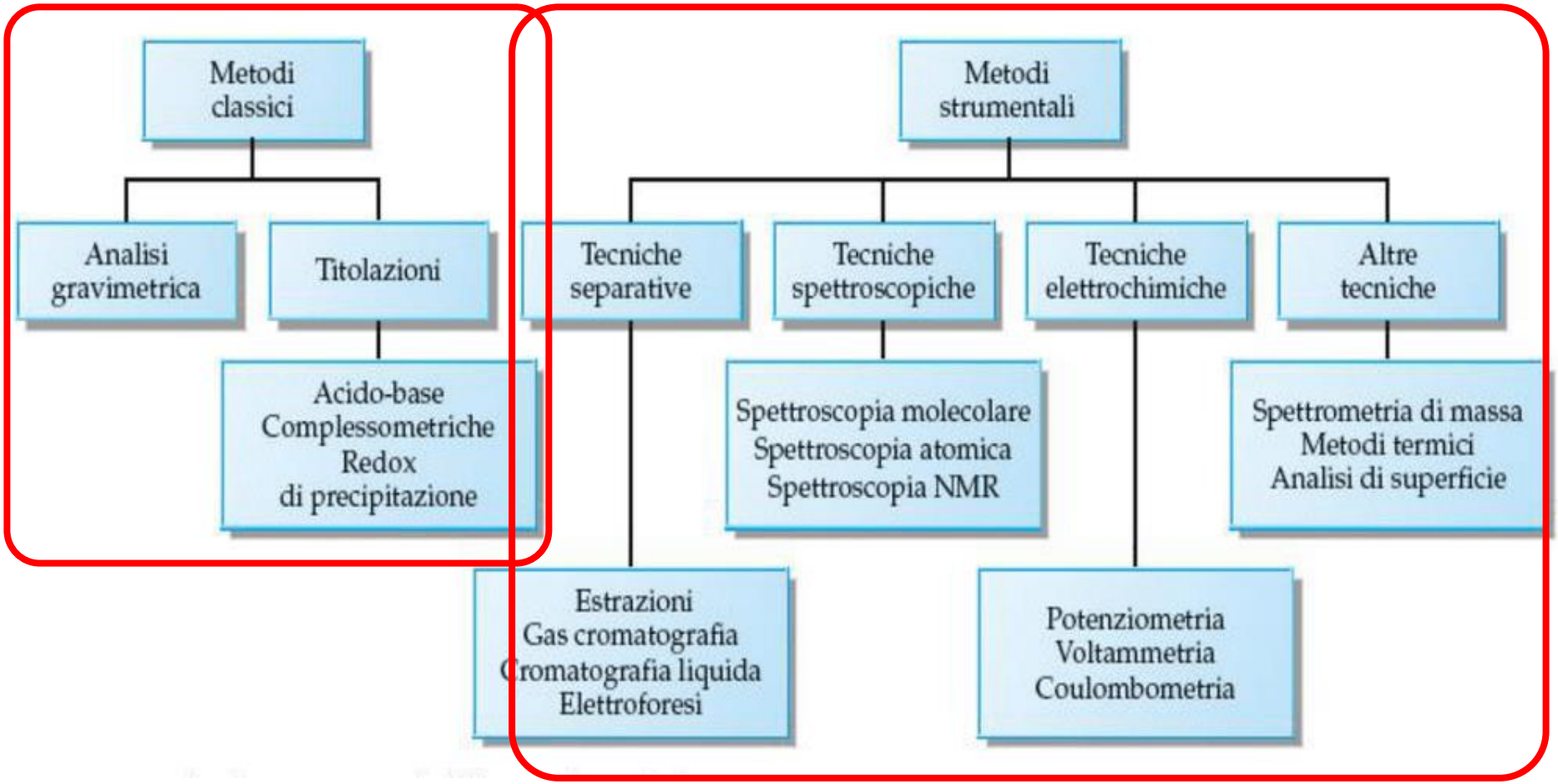
ANALITA:
componente del campione che si vuole misurare

L' analita può essere il componente

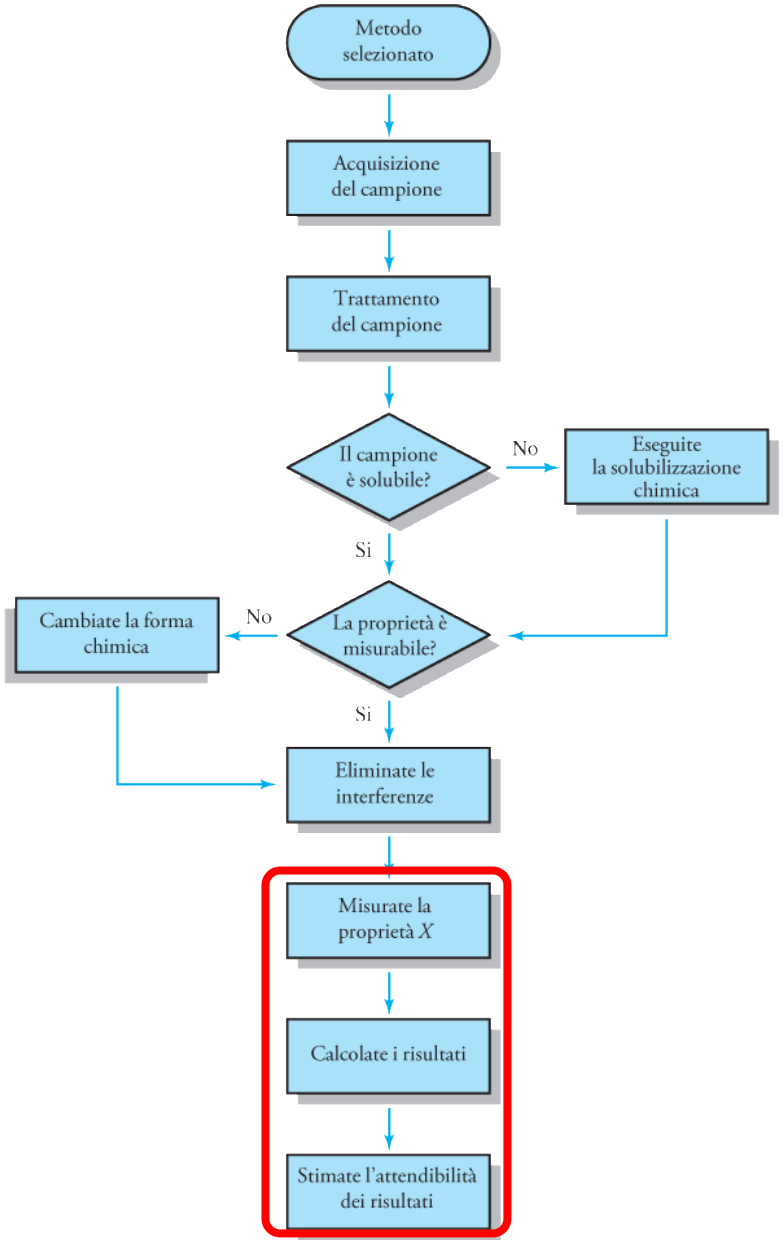
- principale (> 1 %)
- secondario (0.01 – 1 %)
- traccia/impurezza (< 0.01 %)

Classificazione delle tecniche analitiche

L'Analitica comprende una **grande varietà di metodi**, che possono essere suddivisi in base a ciò che viene determinato/monitorato:



Fasi in una analisi quantitativa



- ✓ SCELTA DEL METODO
- ✓ CAMPIONAMENTO
- ✓ TRATTAMENTO PRELIMINARE DEL CAMPIONE
- ✓ ELIMINAZIONE INTERFERENZE
- ✓ MISURA DELLA CONCENTRAZIONE
- ✓ CALCOLO DEI RISULTATI
- ✓ VALUTAZIONE DEI RISULTATI

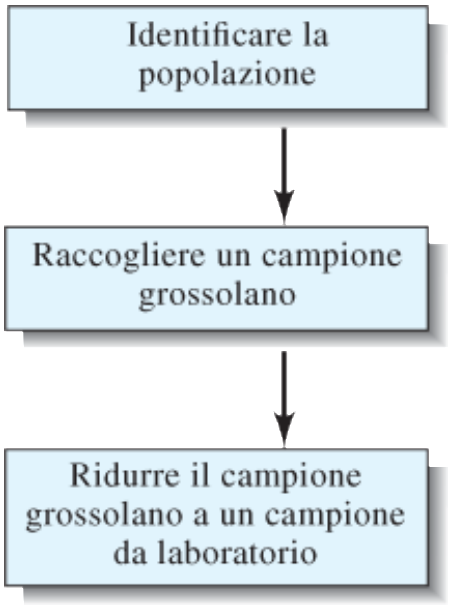
Fasi in una analisi quantitativa

✓ **SCELTA DEL METODO**

- accuratezza richiesta (tempo/denaro)
- numero di campioni a disposizione
- complessità del campione

✓ **CAMPIONAMENTO**

è il processo mediante il quale si riduce la dimensione di una popolazione di un campione ad una *quantità* di materiale omogeneo che può essere agevolmente manipolata in laboratorio e la cui *composizione* è rappresentativa della popolazione



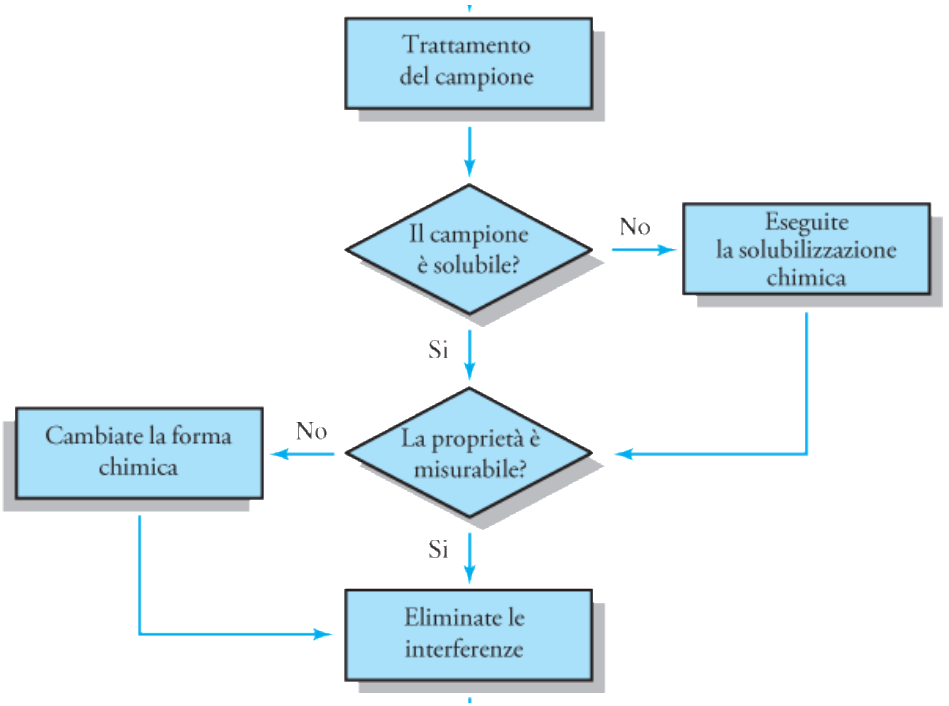
Fasi in una analisi quantitativa

✓ **TRATTAMENTO PRELIMINARE DEL CAMPIONE**

- campione liquido
- campione solido ⇒ dissoluzione

Il campione è in *soluzione*

L'analita è in una *forma appropriata per la misura*



✓ **ELIMINAZIONE INTERFERENZE**

eliminazione delle sostanze che possono interferire con la misura dell'analita

Fasi in una analisi quantitativa

✓ **MISURA DELLA CONCENTRAZIONE**

c_A = concentrazione dell'analita
X = proprietà chimica o fisica (proporzionale alla c_A)
k = costante di proporzionalità (calibrazione)

$$c_A = kX$$

✓ **CALCOLO DEI RISULTATI**

✓ **VALUTAZIONE DEI RISULTATI**

- attendibilità dei risultati
- validazione del metodo

METODI	PROPRIETA' MISURATE
Gravimetrici	**Massa** di un analita puro o di un composto che lo contiene stechiometricamente
Volumetrici	**Volume** di soluzione standard necessaria per reagire completamente con l'analita
Spettroscopici	**Interazione** di una radiazione elettromagnetica con gli atomi o le molecole di analita, con emissione o assorbimento da parte dell'analita
Elettroanalitici	**Proprietà elettriche** della soluzione di analita quali il potenziale, la corrente, la resistenza e la quantità di carica elettrica

Importanti unità di misura

Prefissi per le Unità		
Prefisso	**Abbreviazione**	**Multiplicazione**
yotta-	Y	10^{24}
zetta-	Z	10^{21}
exa-	E	10^{18}
peta-	P	10^{15}
tera-	T	10^{12}
giga-	G	10^{9}
mega-	M	10^{6}
chilo-	k	10^{3}
etto-	h	10^{2}
deca-	da	10^{1}
deci-	d	10^{-1}
centi-	c	10^{-2}
milli-	m	10^{-3}
micro-	μ	10^{-6}
nano-	n	10^{-9}
pico-	p	10^{-12}
femto-	f	10^{-15}
atto-	a	10^{-18}
zepto-	z	10^{-21}
yocto-	y	10^{-24}

TRATTAMENTO E VALUTAZIONE DEI DATI

- **CIFRE SIGNIFICATIVE**
- **ARROTONDAMENTO**
- **PRECISIONE**
- **ACCURATEZZA**
- **ERRORI**

› CIFRE SIGNIFICATIVE

Numero minimo di cifre necessario per esprimere un dato valore in notazione scientifica senza comprometterne l'accuratezza.

Le cifre significative di un numero sono tutte le cifre certe più la prima **incerta**.

Cifre significative

- La posizione della virgola non influenza il numero di cifre significative.

Esempio: 1.1234, 132.45, 23.456

- Gli zeri presenti tra cifre diverse da zero sono significativi.

Esempio: 1.034, 1.908, 20.56

- Gli zeri presenti a sinistra di una cifra decimale **non** sono significativi:

0.0034 ha *due cifre significative*
Infatti **0.0034** può essere scritto come:
3.4×10^{-3} → 2 CIFRE SIGNIF.

Cifre significative

- Gli zeri terminali presenti dopo la virgola sono significativi.

Esempio: 5.80, 6.0980, 24.3400

- Gli zeri terminali presenti in un numero non decimale possono essere significativi oppure no. A tale riguardo è opportuno l'uso degli esponenti, per indicare quante cifre si conoscono effettivamente.

Esempio: 540 (54 x 10), 2500 (25 x 10^2)

Cifre significative

definizione
si chiamano *cifre significative* le cifre lette dalla misura di una grandezza fisica. Esse dipendono dalla sensibilità dello strumento di misura.
esempi
1,22 m 1,2,2 sono cifre significative | 19,02 g 1,9,0,2 sono cifre significative | 27,100 cm^2 2,7,1,0,0 sono cifre significative

criterio di conteggio delle cifre significative		
in una misura sono significative tutte le cifre eccetto gli zeri iniziali		
esempi		
0,2 s ha **1** cifra significativa	0,047 m/s ha **2** cifre significative	3207,50 J ha **6** cifre significative
1,22 m ha **3** cifre significative	19,02 g ha **4** cifre significative	27,100 cm^2 ha **5** cifre significative

cifre significative nel risultato di operazioni tra grandezze fisiche
il numero di cifre significative nel risultato di operazioni condotte su due o più misure di grandezze fisiche è uguale al numero di cifre significative della misura meno accurata. In particolare:
• nell'operazione di addizione e sottrazione, il risultato ha come ultima cifra significativa quella che si ottiene dalla somma o differenza di cifre significative delle misure iniziali • nell'operazione di moltiplicazione e divisione, il risultato ha il *minimo numero* di cifre significative delle misure iniziali

› ARROTONDAMENTO

Quando si eliminano cifre non significative, si arrotonda il risultato alla prima cifra incerta delle significative.

- se la prima cifra non significativa è **minore di 5**: arrotondamento per **difetto**

  In questo caso la cifra precedente rimane invariata:
  1.23674 → 1.2367

- se la prima cifra non significativa è **maggiore di 5**: arrotondamento per **eccesso**

  In questo caso la cifra precedente si aumenta di 1 unità:
  1.23467 → 1.2347

Arrotondamento

V se la prima cifra non significativa **è 5**:

- se è **seguito da zero**, la cifra precedente viene
  - aumentata di 1, se è *dispari*
  - rimane invariata se è *pari*

43.550 → 43.6
43.450 → 43.4

Quindi nell'arrotondare un numero che termina con 5, si ottiene sempre un **numero pari**.

- se è seguito da **altre cifre diverse da zero**, la cifra precedente viene sempre aumentata di 1.

Arrotondamento

NEI CALCOLI NUMERICI:

Nella **somma o sottrazione**, l'ultima cifra significativa è determinata dall'addendo con il minor numero di cifre significative.

Se i numeri da sommare non hanno lo stesso numero di cifre significative **si è limitati da quello meno sicuro**.

Es:

18.9984032 +
18.9984032 +
83.80 - - - - - =

_____

121.7968064 = 121.8 (arrotondamento)

NON SIGNIFICATIVE

Arrotondamento

Nella **moltiplicazione e divisione**, il numero di cifre significative è generalmente **limitato dal fattore col minor numero di cifre significative**.

34.60 : 2.46287 = 14.048

arrotondamento 14.05

Importante:

l'arrotondamento deve essere eseguito sul *risultato finale* per evitare di accumulare errori di arrotondamento!

Cifre significative e calcoli

esempi		
+	$6{,}87\ kg + 0{,}218\ kg + 3{,}54\ kg = 10{,}628\ kg = 10{,}63\ kg$ $1{,}027\ m + 0{,}55\ m = 1{,}577\ m = 1{,}58\ m$	perché in 10,63 3 è somma di cifre significative perché in 1,58 8 è somma di cifre significative
−	$3{,}02m - 1{,}13\ m = 1{,}89\ m$ $207{,}2\ cm^3 - 3{,}16\ cm^3 = 204{,}04\ cm^3 = 204{,}0\ cm^3$	perché in 1,89 9 è differenza di cifre significative perché in 204,0 0 è differenza di cifre significative
×	$75{,}2\ kg \times 9{,}81\ {}^{m}/_{s^2} = 737{,}712\ N = 738\ N$ $6{,}41\ m \times 4{,}531\ m = 29{,}04371\ m^2 = 29{,}0\ m^2$	perché la cifra significativa di entrambe le misure è **3** perchè la cifra significativa minima delle misure è **3**
:	$\frac{7{,}5\ m}{0{,}31\ s} = 24{,}1935\ldots\ {}^{m}/_{s} = 24\ {}^{m}/_{s}$ $\frac{7520\ g}{20{,}5\ cm^3} = 366{,}8292\ldots\ {}^{g}/_{cm^3} = 367\ {}^{g}/_{cm^3}$	perché la cifra significativa di entrambe le misure è **2** perchè la cifra significativa minima delle misure è **3**

IMPORTANTE!! Nello svolgimento delle esperienze usate sempre le **unità di misura**. La mancanza di un'unità di misura viene considerata un errore nella correzione della relazione. (ovviamente **non servono** per valori numerici adimensionali come il pH, pOH, A, ecc ecc..)

Esegui i seguenti calcoli esprimendo il risultato con il corretto numero di cifre significative. GRAZIE!

(a) $0{,}15 \times 3{,}49$

(b) $2{,}77 \times 0{,}055$

(c) $4{,}56 \times 7{,}4132$

(d) $1{,}6 \times 9{,}3584$

(e) $1{,}4 + 3{,}567 + 16{,}3$

(f) $0{,}37 + 15{,}1 + 7{,}459$

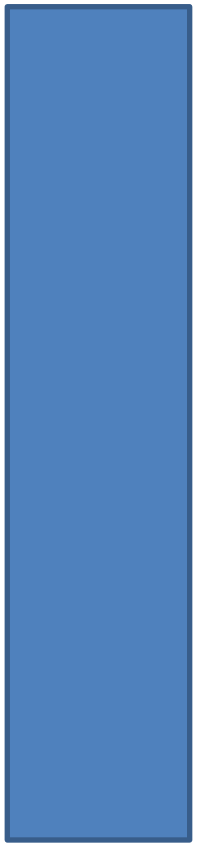
(g) $0{,}0075 + 25{,}6 + 7{,}85$

(h) $\frac{6{,}75}{1{,}4}$

(i) $\frac{8{,}55}{10{,}34}$

(l) $\frac{0{,}45 \times 7{,}459}{1{,}25}$

(m) $\frac{6{,}31 \times 3{,}49}{2{,}473}$



- Dividetevi in gruppi
- Risolvete i conti
- Accedete al Padlet e inserite i vostri risultati come gruppo

Accuratezza e Precisione

› PRECISIONE E ACCURATEZZA

PRECISIONE → MISURA DELLA

RIPRODUCIBILITA' di un risultato

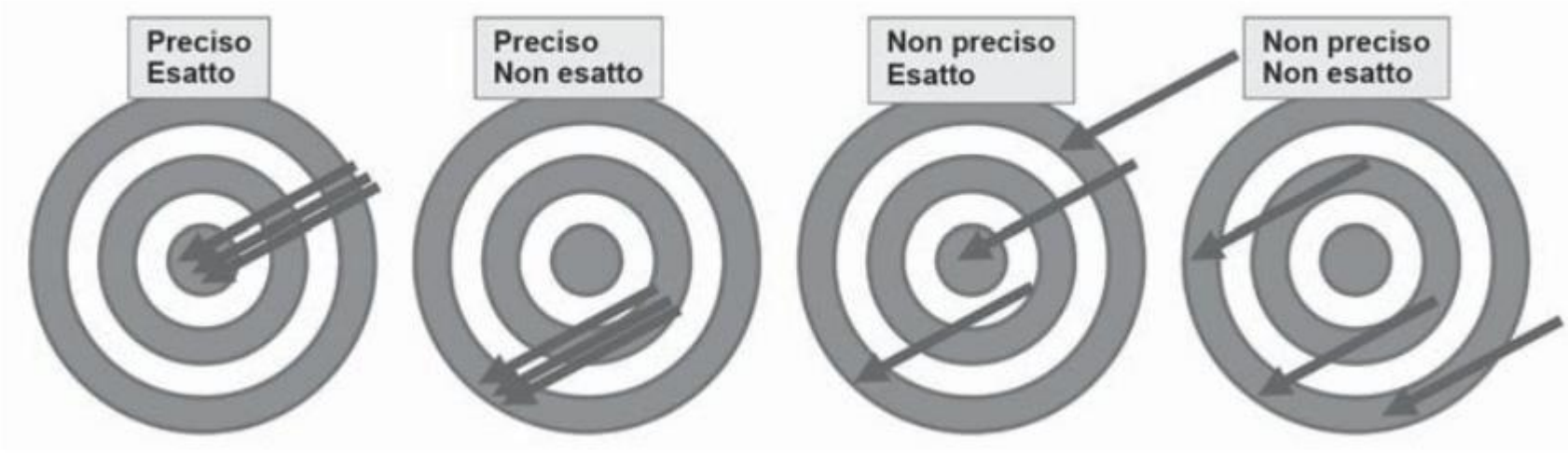
ACCURATEZZA → PROSSIMITA' DEL VALORE

MISURATO AL **VALORE "VERO "**

Accuratezza e Precisione

Gli errori sistematici e casuali influenzano rispettivamente due parametri fondamentali nell'analisi quantitativa: **ACCURATTEZZA** e **PRECISIONE**. Gli errori sistematici causano un allontanamento dal risultato del valore vero determinando una perdita di esattezza. Gli errori casuali provocano invece una dispersione dei dati attorno al valore medio determinando una perdita di precisione.

GARA DI TIRO AL BERSAGLIO:



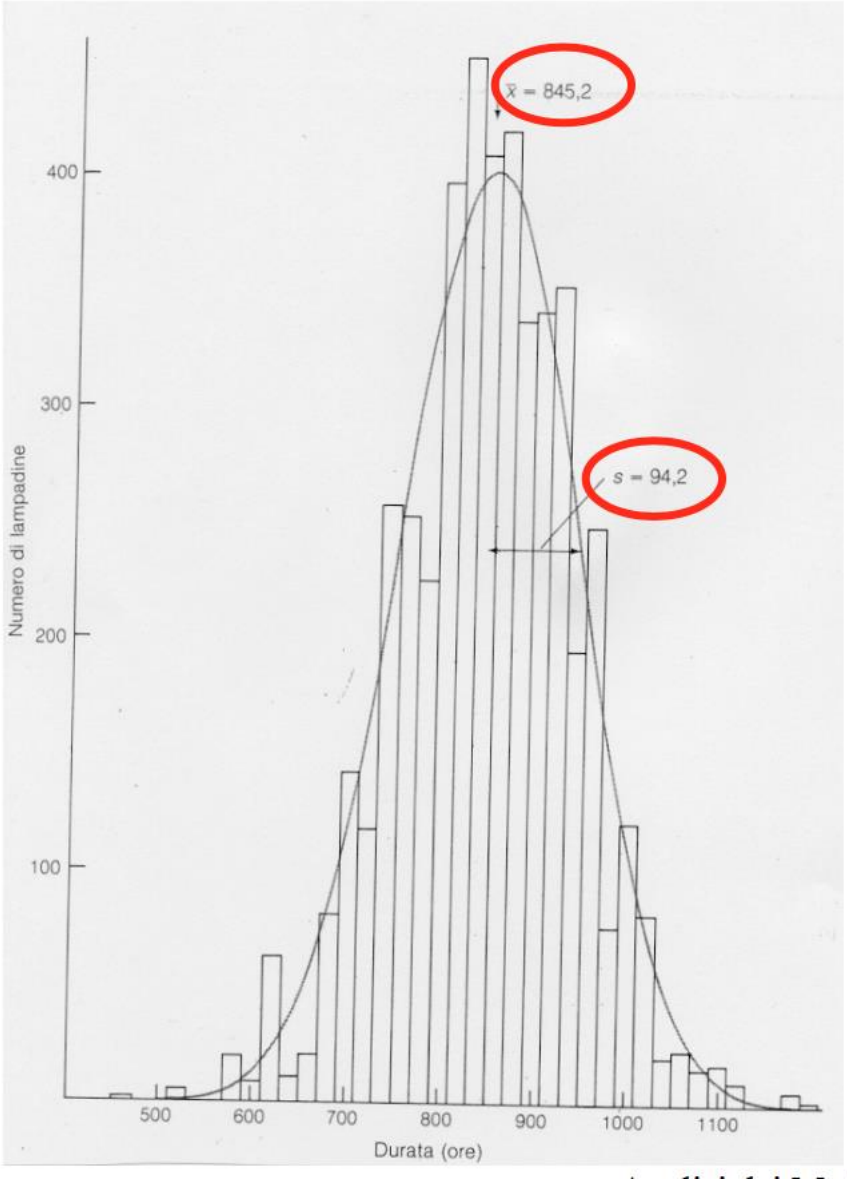
Precisione

PRECISIONE

- **Descrive la riproducibilità delle misurazioni**
- Si determina generalmente con una semplice ripetizione della misura sui campioni (replicati)
- Tre termini sono ampiamente usati per descrivere la precisione di una serie di dati replicati:

  » **Deviazione standard**
  » **Varianza**
  » **Coefficiente di variazione**

Precisione



CURVA GAUSSIANA

I risultati di molte misure di una quantità sperimentale seguono una distribuzione **gaussiana**, se gli errori sono casuali.

Precisione

Una distribuzione gaussiana è caratterizzata da una **media** e da una **deviazione standard**:

- la **media** fornisce il valore centrale della distribuzione
- la **deviazione standard** ne misura l'ampiezza

Precisione

- **media aritmetica** chiamata anche **media** è la somma dei valori misurati divisa per il numero delle misure:

$$\overline{x} = \frac{\sum_{i=1}^{n} x_i}{n}$$

n = numero totale di misure

Precisione

- **deviazione standard** è una misura dell'ampiezza della distribuzione

Più piccolo sarà il valore della deviazione standard, tanto più i dati tendono ad addensarsi intorno alla media e maggiore sarà la *precisione* della misura.

Per un piccolo insieme di dati, vale l'equazione seguente:

$$s = \sqrt{\frac{\sum(xi - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n-1}}$$

n – 1 si definisce come **gradi di libertà** del sistema

Accuratezza

› **ACCURATEZZA**

concordanza tra un valore misurato ed il valore vero

scostamento dal valore "vero" → ERRORE

L'errore di una misura è **indice della sua inaccuratezza**, o un **indice inverso della sua accuratezza**: quanto più è piccolo l'errore, tanto maggiore è l'accuratezza.

Errori

› **ERRORI**

OGNI MISURA PRESENTA **UN'INCERTEZZA,**
chiamata **ERRORE SPERIMENTALE**:

V **SISTEMATICO (DETERMINATO)**

V **CASUALE (INDETERMINATO)**

V ERRORE SISTEMATICO (DETERMINATO)

deriva da un difetto nella strumentazione o nella progettazione di un esperimento.

Prerogativa essenziale è che esso **è riproducibile.**

Ha un **valore definito e una causa determinabile.**

Es: pH-METRO NON TARATO

Si può individuare e correggere.

Errori

V ERRORE CASUALE (INDETERMINATO)

deriva dall'effetto prodotto da variabili *incontrollabili* nelle misure

- *POSITIVO O NEGATIVO*
- *SEMPRE PRESENTE E NON SI PUO' CORREGGERE*

Errore assoluto *E*

E di una misura è la differenza fra il valore misurato (x_m) e il valore vero (x_v) della grandezza misurata:

$$E = x_m - x_v$$

Errore relativo E_r

Gli errori di solito non vengono espressi in valore assoluto, ma in **valore relativo (E_r)** dato dall'errore assoluto rispetto al valore vero X_v ed è espresso in percentuale:

$$E_r = \frac{x_m - xv}{x_v} \, x \, 100$$

Rapporto percentuale tra errore assoluto e valore vero

Errori

Errore grossolano

Questo errore si presenta occasionalmente, è spesso grande e può generare un valore maggiore o minore del valore vero.

Sono spesso il prodotto di errori umani.

Gli errori grossolani differiscono notevolmente da tutti gli altri dati.

Sono responsabili degli outliers (dati anomali)

Un **outlier** è un dato ottenuto occasionalmente in una serie di misure replicate che differisce in maniera significativa dagli altri risultati.

Test Q o test di Dixon

è un test statistico per individuare i dati anomali

$$Q = \frac{x_0 - xn}{x_{max} - xmin}$$

x_0 è il dato sospetto anomalo
x_n è il dato ad esso più vicino
x_{max} è il valore più grande
x_{min} è il valore più piccolo

Confronto con i valori critici Q_c

Valori critici per il quoziente di scarto, Q^*

Numero di osservazioni	Q_{crit} (Si scarta se $Q > Q_{crit}$) LF del 90%	LF del 95%	LF del 99%
3	0,941	0,970	0,994
4	0,765	0,829	0,926
5	0,642	0,710	0,821
6	0,560	0,625	0,740
7	0,507	0,568	0,680
8	0,468	0,526	0,634
9	0,437	0,493	0,598
10	0,412	0,466	0,568

*Dati riprodotti da D. B. Rorabacher, *Anal. Chem.*, **1991**, *63*, 139, **DOI:** 10.1021/ac00002a010. Per gent. conc. della American Chemical Society. Copyright 1991.

Se **$Q > Q_c$** il dato può essere definito **ANOMALO** e verrà scartato

Test Q

Un campione di urine contenente una quantità nota di marcatori per la marijuana viene inviato a diversi laboratori antidroga per valutare la loro capacità nel monitorare i livelli di questo analita.

Tali laboratori riportano le seguenti concentrazioni:
55.3 µg/L
57.8 µg/L
54.0 µg/L
68.1 µg/L
58.7 µg/L

Utilizzando il test Q si determini quale di questi risultati può essere considerato un dato anomalo con un livello di fiducia del 95%.

Trattamento e valutazione dei dati

TABELLA 4.6 Valori critici (Q_c) per il test Q^*

Numero di valori nella popolazione dei dati	Valori di Q_c a differenti livelli di fiducia		
	Livello di fiducia = 90%	95%	99%
3	0.941	0.970	0.994
4	0.765	0.829	0.926
5	**0.642**	**0.710**	**0.821**
6	0.560	0.625	0.740
7	0.507	0.568	0.680
8	0.468	0.526	0.634
9	0.437	0.493	0.598
10	**0.412**	**0.466**	**0.568**
11	0.392	0.444	0.542
12	0.376	0.426	0.522
13	0.361	0.410	0.503
14	0.349	0.396	0.488
15	**0.338**	**0.384**	**0.475**
16	0.329	0.374	0.463
17	0.320	0.365	0.452
18	0.313	0.356	0.442
19	0.306	0.349	0.433
20	**0.300**	**0.342**	**0.425**

*Questi valori si riferiscono a un test *Q a due code* e sono raccomandati per la verifica di valori anomali alti o bassi nella popolazione dei dati. Una lista più completa dei valori di Q_c, inclusa quella per il test *Q a una coda*, è riportata nell'articolo di D. B. Rorabacher, *"Statistical Treatment for Rejection of Deviant Values: Critical Values of Dixon's 'Q' Parameter and Related Subrange Ratios at the 95% Confidence Level"*, *Analytical Chemistry*, 63 (1991) 139–146.

Dalla tabella si ricava come valore di Q critico ($\mathbf{Q_c}$) 0.710 per n=5 e un livello di fiducia del 95%.

Il valore calcolato di Q (0.67) è inferiore a 0.710, pertanto 68.1 µg/L **NON può essere considerato un dato anomalo** per il livello di fiducia scelto.