

Primer examen parcial

Problema 1

Para determinar la concentración de creatinina en suero espectrométicamente, se construyó una curva de calibrado tomando alícuotas de una solución de trabajo. Esta solución se preparó haciendo una dilución de 5,00 mL de una solución patrón de creatinina (1,25 mg/mL) en 250,00 mL de agua bidestilada. Los testigos se prepararon agregando las alícuotas de la tabla, 5,0 mL de ácido pícrico (0,04M) y 1,3 mL de NaOH 2 M en un matraz de 50,00 mL y llevando a volumen con agua bidestilada. La solución del blanco se prepara agregando 5,0 mL de ácido pícrico (0,04M) y 1,3 mL de NaOH 2 M y se lleva a volumen (50,00 mL) con agua bidestilada. Las alícuotas de solución de trabajo utilizadas y las señales de absorbancia obtenidas fueron:

Testigo	mL	A
1	0,3	0,180
2	0,4	0,242
3	0,5	0,293
4	0,6	0,348
5	0,7	0,400

- ¿Cómo y por qué calibra el espectrofotómetro antes de comenzar a realizar las medidas?
- Teniendo en cuenta que el ácido pícrico (reactivo utilizado) absorbe a la longitud de onda de trabajo, indique si los valores de las señales serían iguales si se hubiese calibrado a 100% de T con agua bidestilada. ¿Hubiese obtenido el mismo valor de concentración de creatinina en la muestra? Justifique su respuesta.
- Grafique los puntos experimentales (Señal vs. concentración de los testigos en mg de Creatinina / L de testigo) en papel milimetrado, y aplique el método de mínimos cuadrados a los datos de señal y concentración, para obtener la ecuación de la recta. Represente la recta sobre el mismo gráfico teniendo en cuenta los valores del primer y último testigo (**aclaración:** puede graficar la curva y obtener la ecuación de regresión lineal en Excel o en un programa de hojas de cálculo similar).
- Si la concentración de creatinina en la muestra es aproximadamente 12,5 mg/L de suero elija, según su criterio, el o los caminos de dilución apropiados que debería hacerle a la muestra para que la señal de absorbancia medida esté comprendida dentro de la curva de calibrado.
 - De la muestra de suero se toman 2,00 mL y se lleva a un volumen de 25,00 mL con agua bidestilada. De esta solución se toman 5,00 mL y se los trata igual que a los testigos.

- 2) De la muestra de suero se toman 3,00 mL y se lleva a un volumen de 25,00 mL con agua bidestilada. De esta solución se toman 5,00 mL y se los trata igual que a los testigos.
- 3) De la muestra de suero se toman 3,00 mL y se lleva a un volumen de 25,00 mL con agua bidestilada. De esta solución se toman 10,00 mL y se los trata igual que a los testigos.
- 4) De la muestra de suero se toman 1,00 mL y se los trata igual que a los testigos.
- 5) De la muestra de suero se toman 3,00 mL y se lleva a un volumen de 10,00 mL con agua bidestilada. De esta solución se toman 5,00 mL y se los trata igual que a los testigos.
- 6) De la muestra de suero se toman 2,00 mL y se lleva a un volumen de 10,00 mL con agua bidestilada. De esta solución se toman 5,00 mL y se los trata igual que a los testigos.

Problema 2

Se desea determinar espectrométricamente el contenido de fenoles totales en orina utilizando un método enzimático. Para ello se toman 10,00 mL de orina, se le agregan los reactivos necesarios para realizar una hidrólisis ácida y se lleva a 25,00 mL con solución tampón de pH 7. De esta solución se toman 5,00 mL, se agregan 2 mL de la enzima (polifenol oxidasa) y se lleva a un volumen final de 10,00 mL con la solución tampón de pH 7.

Las soluciones testigo se preparan a partir de una solución patrón de fenol de 250 mg/L. De esta solución se miden alícuotas de 0,10; 0,20; 0,30; 0,40; 0,50; 0,60 y 0,70 mL, se agregan 2 mL de enzima y se completa el volumen a 10,00 mL con solución tampón de pH 7. Las señales de absorbancia obtenidas son: 0,105; 0,198; 0,289; 0,380; 0,481; 0,590 y 0,670, respectivamente.

- a) Calcule las concentraciones de las soluciones testigo expresándolas en mg fenol/L de solución testigo.
- b) Aplique el método de mínimos cuadrados a los datos de señal y concentración, para obtener la ecuación de la recta $y = bx + a$, y respresente la misma en papel milimetrado teniendo en cuenta los valores del primer y último testigo. (**aclaramiento:** puede graficar la curva y obtener la ecuación de regresión lineal en Excel o en un programa de hojas de cálculo similar).
- c) Determine la concentración de fenoles en la muestra expresada en mg fenol/L orina si la señal de absorbancia promedio de cinco réplicas es 0,375.
- d) ¿Qué material volumétrico debe utilizarse para agregar las enzimas? ¿Y para tomar las alícuotas?