

Trabajo práctico N°3: Determinación de glucosa por Espectroscopía UV-Visible

Integrantes:

Arias, Lucia Daniela
Rubio, Elizabeth Roxana
Villalba, Gabriela
Tortoriello, Ignacio
GRUPO 8

Comisión: 2 (T. Tarde)

Docente: Sabeckis, María Lurdes

Año: 2022

Objetivo

Se plantea como objetivo conocer la concentración de una muestra incógnita de glucosa en solución, utilizando la técnica de espectrofotometría (Espectroscopía UV-Visible).

Introducción

La técnica de espectroscopía por luz ultravioleta visible es bastante utilizada en el campo de la química analítica. El análisis de ésta técnica consiste en la interacción de la radiación electromagnética con la materia, midiendo la cantidad de luz absorbida en función de la longitud de onda utilizada, permitiéndonos determinar compuestos químicos como también su concentración.

El trabajo de laboratorio estuvo vinculado al análisis de una muestra de glucosa, de la cual se prepararon soluciones de diferentes concentraciones rotuladas, para luego añadirle un reactivo coloreado, con el fin de someterlas a espectroscopía uv-visible y así conformar una curva de calibración lineal para determinar la concentración del compuesto de concentración incógnita.

Materiales y Métodos

Inicialmente, partiendo de una solución madre 10 g/L, se prepararon cinco diluciones estándar de agua glucosada: 50,0 mL de una solución de concentración final 1 g/L, 20,0 mL de una solución de concentración final 2 g/L, 20,0 mL de una solución de concentración final 4 g/L, 20,0 mL de una solución de concentración final 6 g/L, 10,0 mL de una solución de concentración final 8 g/L y 10,0 mL de solución glucosada de la misma concentración que la madre. Posteriormente se dispusieron siete tubos de ensayo con 1,5 ml de muestra de solución estándar con las concentraciones conocidas. La primera de ellas fue 3 ml de H₂O con 30 uL de reactivo color, se denominó "Blanco" dado que su concentración de glucosa era 0%, y se utilizó para calibrar en cero el instrumento de medición. Luego, a las soluciones con 1,5ml de diluciones estándar (de las diluciones 1g/L, 2g/L, 4g/L, 6g/L, 8g/L y 10g/L respectivamente) se le agregó a cada una 1,5 mL de reactivo de color comercial (4-AF + fenol), utilizando micropipeta P1000, realizando dos pipeteos de 750 uL para no arrastrar error sistemático.

Fueron entregadas también dos muestras de 1,5 mL de agua con glucosa de concentración incógnita a analizar para el siguiente estudio, a las que se les añadió 1,5 mL de reactivo color a cada una

El proceso mencionado se detalló en el siguiente cuadro para mayor precisión:

Cuadro 1. Concentraciones de tubos de ensayo con reactivo.

Concentración de glucosa (g/L)	0	0,5	1	2	4	6	8	10
Volumen de agua (mL)	3	0	0	0	0	0	0	0
Volumen de estándar (mL)	0	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Reactivo de trabajo (mL)	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5

Los últimos nueve tubos, preparados anteriormente, se llevaron en una gradilla a un baño de 37° para incubación durante 10 minutos.

Inmediatamente después, se utilizó un espectrofotómetro uv-visible a $\lambda = 505 \text{ nm}$ para determinar las concentraciones de cada una de las muestras preparadas previamente.

Resultados y Análisis

Absorbancia

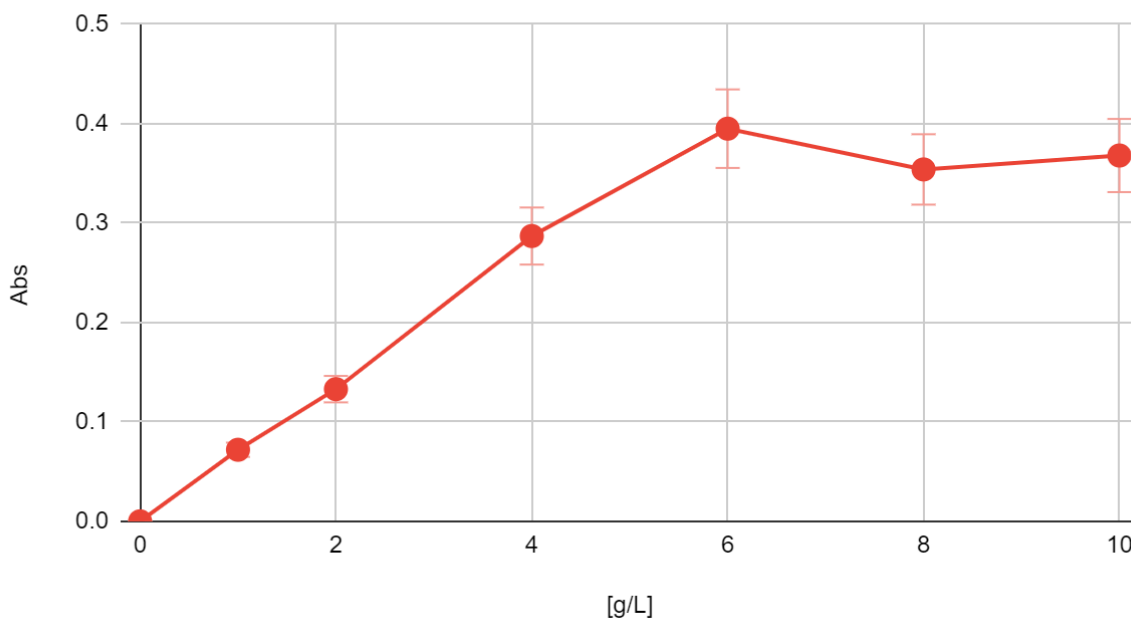


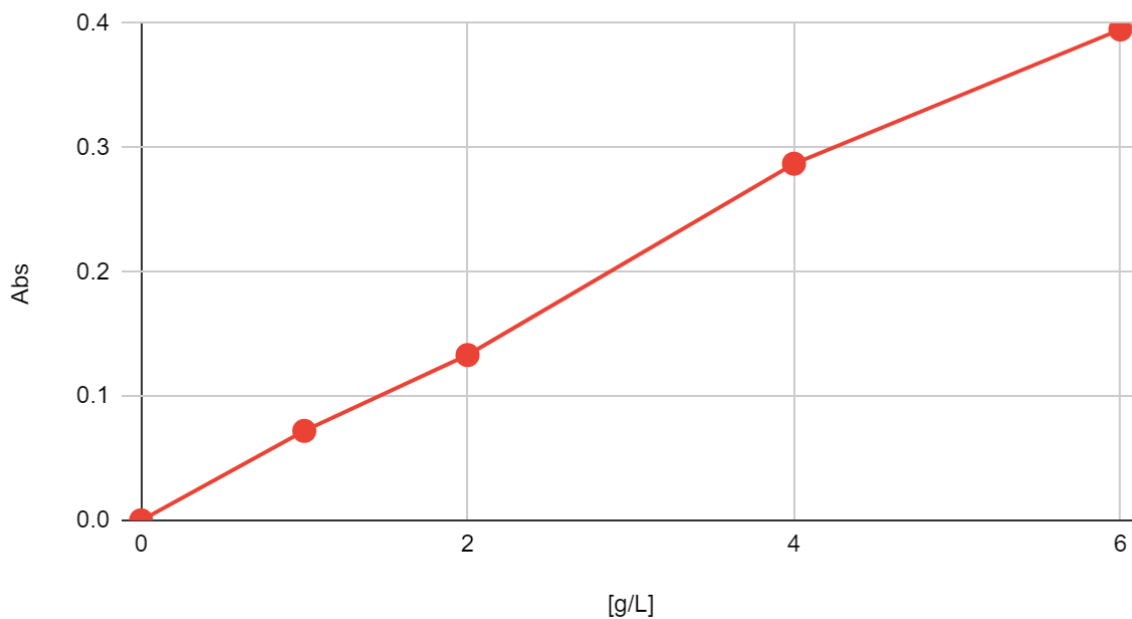
Gráfico 1. Concentración de muestras en función de su absorbancia.

[Glucosa] g/L	Absorbancia
Blanco (0.000)	0
1	0,072
2	0,133
4	0,287
6	0,395
8	0,354
10	0,368

Cuadro 2. Absorbancia de las muestras de glucosa.

Los últimos dos resultados no son correlativos a una linealidad formando una meseta. Los cuales se descartan y se utilizan los restantes:

Abs contra [g/L]



Absorbancia de la muestra incógnita: 0,138 ; 0,298 (/2 = 1,49)

Relación Lamber-Beer con estimación lineal: $f(x) = 0,0668 x + 0,00371$

$R^2 = 0,0996$

Incógnita 1: $0,138 - 0,00371 / 0,0668 = 2,01$

Incógnita 2: $0,149 - 0,00371 / 0,0668 = 2,17$

Concentración promedio: 2,09

Error, desvío estándar: 0,4949

Concentración de la muestra incógnita de glucosa	$(2,09 \pm 0,49) \text{ g/L}$
--	-------------------------------

La concentración de una de las muestras incógnitas obtuvo un valor apartado del verdadero por un error del operario en el pipeteo, el cual se pipetea por segunda vez los 750 uL estando dentro del baño a 37°, arrojando un valor de absorbancia más alto. Resaltando los valores semejantes entre las concentraciones 6 g/L y 8 g/L, se destaca una inexactitud en forma de meseta debido a falta de control de medición con micropipeta. Por ende, la regresión lineal responde a un valor distinto al real.

De la muestra incógnita con el error, podría ser válido dividir en dos su resultado, siendo un valor muy próximo al de la otra muestra incógnita.

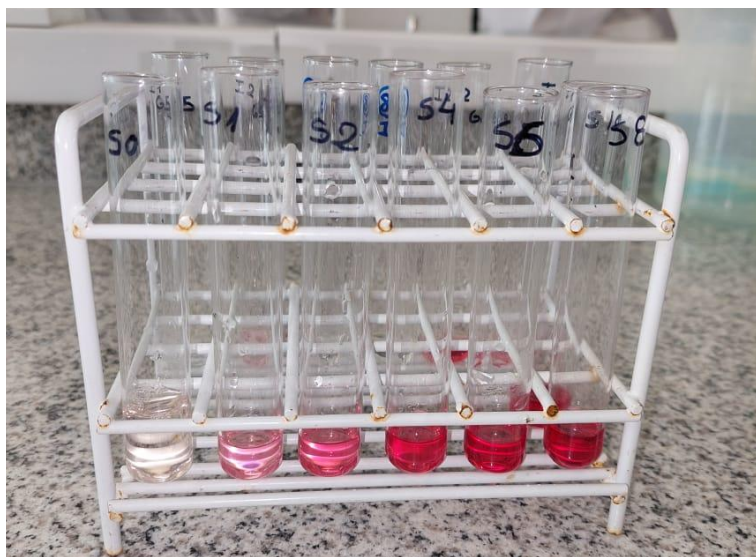


Fig.1 Tubos de ensayo en reacción colorimétrica

Conclusiones

Respecto a la concentración de la muestra incógnita en este caso, la posibilidad de que sean resultados sesgados son amplias, esto se puede ver claramente en el gráfico de calibración el cual no es lineal como es de esperarse teóricamente, se infiere que esto se debe a dos errores que ocurrieron en la realización del trabajo. Siendo ambos errores de operación, uno de ellos es el uso de un mismo tipo de la micropipeta para todas las soluciones estándares, lo cual produce una contaminación, alterando la calibración y otro error al colocar el “cero” en el equipo espectrofotométrico, generando que el equipo brinde datos erróneos.

No se puede afirmar que la concentración resultante sea la correcta, por lo cual se debe repetir el ensayo.