



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

Estudio de Sensibilidad, Reproductibilidad y
Estadístico en la Determinación de
Acido Urico Serico.

TESIS RECEPCIONAL

Que para obtener el título de
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
p r e s e n t a
JOSEFINA DE JESUS VAZQUEZ FLORES

MEXICO, D. F.

1 9 7 3

M-172555



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A MIS PADRES:

Sr. Felipe Vázquez y

Sra. Josefina Flores

Por la inspiración de

su cariño y la recompenu

sa de sus esfuerzos.



A MIS HERMANOS :

Dr. Felipe Vázquez F.

Dr. Héctor Fdo. Vázquez F.

Dr. C. D. Eugenio Vázquez F.

Mi particular agradecimiento por la dirección de este trabajo al Sr. Q. F. B. Ramón Guevara Estrada.

AL

HONORABLE JURADO.

JURADO ASIGNADO OFICIALMENTE :

PRESIDENTE : Q.F.B. MAGDALENA ACOSTA SEGURA

VOCAL : Q.F.B. RAMON GUEVARA ESTRADA

SECRETARIO : Q.F.B. ETELVINA MEDRANO DE JAIMES

1er. SUPLENTE : Q.F.B. LEONOR MARTINEZ SOTO

2do. SUPLENTE : Q.F.B. ERNESTINA BALLESTEROS RUEDA

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA

HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO

SUSTENTANTE JOSEFINA DE JESUS VAZQUEZ FLORES

ASESOR DEL TEMA Q.F.B. RAMON GUEVARA ESTRADA.

INDICE

	Pág.
INTRODUCCION.	1
I.- GENERALIDADES.	3
II.- MATERIAL Y METODOS.	14
III.- RESULTADOS.	32
IV.- INTERPRETACION Y DISCUSION DE LOS RESULTADOS.	40
V.- RESUMEN Y CONCLUSIONES.	50
VI.- BIBLIOGRAFIA.	52

INTRODUCCION

La determinación cuantitativa del ácido úrico es una de las pruebas de rutina en el Laboratorio de Análisis Clínicos, por lo que se han desarrollado varios métodos que van desde técnicas más o menos simples, hasta técnicas enzimáticas; algunas de ellas son aplicables a la cuantificación en sangre y orina, otras solamente en sangre y algunas cuantas únicamente en orina.

Nuestro trabajo está dirigido, no a proponer modificaciones a los métodos ya existentes o la presentación de un nuevo método, sino a analizar dos de las corrientes más frecuentes de los métodos conocidos.

Por un lado el empleo de ácido fosfotúngstico en medio alcalino (solución de cianuro de sodio-urea) forma un complejo colorido reproducible y cuantificable. Por otro lado el uso de ácido arsenotúngstico que también en medio alcalino -- solución de cianuro de sodio-urea-hidróxido de sodio) forma el complejo azul -

con las mismas características.

Aplicamos las dos técnicas sobre una misma muestra de suero, que -
fué desproteinizado por la técnica de Folin Haden, comparamos los resultados ob-
tenidos después de hacer las lecturas comparativas de color en un espectrofotóme-
tro, a las longitudes de onda previamente determinadas como óptimas.

De los resultados hacemos comparaciones estadísticas de los métodos
y finalmente de las mejores correlaciones compararemos las de las dos técnicas es-
tudiadas.

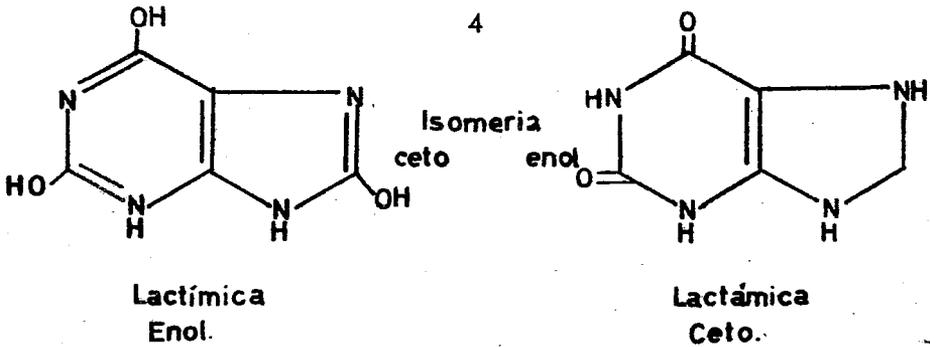
CAPITULO I

GENERALIDADES.

ANTECEDENTES : El ácido úrico es un compuesto del metabolismo del hombre. Fué descubierto independientemente por Scheele y Bergman en 1776, sin que ellos conocieran su estructura química, que fué deducida por Médicus aproximadamente un siglo después, al estudiar sus productos de degradación encontrando en ellos fragmentos conocidos.

Es la 2, 6, 8, Trioxipurina, con fórmula global $C_5 H_4 N_4 O_3$ y su composición porcentual C = 35.72 %; H = 2.40 %; N = 33.33 % y O = 28.55 por ciento.

Su fórmula esquemática es :



Y su síntesis, iniciada por Baeyer en 1863, confirmó su estructura - hasta el estado de pseudoácido y fué lograda completamente por Fisher en 1895, - con el descubrimiento del último producto para cerrar el anillo, lográndose con - calentamiento a $145 - 155^{\circ} \text{C}$ por 10 minutos con ácido oxálico, o bien 20 minutos con HCl.

PROPIEDADES FISICAS : Cristales blancos; se descomponen por el calor sin llegar a ebullición, con tratamiento con HCN, densidad 1.86; Solubilidad : 1 gramo en 15,000 de H_2O fría ó 2,000 de H_2O caliente; en glicerina; en soluciones alcalinas de hidróxidos, de carbonatos. Acetato de sodio; insoluble en alcohol y éter.- Su constante disociación es del orden de 10^{-2} es un ácido más débil que el acético.

PRINCIPALES REACCIONES QUIMICAS : La oxidación por el Cl, Br, u otro --- agente oxidante en medio ácido, descomponen el ácido úrico en Aloxana con desprendimiento de CO_2 . Reacción (2)

La oxidación en medio alcalino produce Alantoina con desprendimiento de CO_2 (o su fijación como carbonato) Reacción (3).

Al reaccionar con POCl_3 , se transforma en 2, 4, 6, 8, tricloropurina ya que las diazino-onas, reaccionan similarmente a las piridonas.

Es un derivado purínico que resulta de la fusión de los grupos del núcleo de la pirimidina con el núcleo del imidazol, recibiendo el nombre específico de purinas, compuesto ampliamente distribuido en la naturaleza.

FUENTES ENDOGENAS DEL ACIDO URICO, EN EL ORGANISMO : Catabolismo de las nucleo-proteínas.

Los ácidos nucléicos originales son hidrolizados por las polinucleotidasas y otras fosfodiesterasas, entonces los mononucleotidos son hidrolizados a nucleósidos.

La guanosina reacciona con una nucleosidofosforilasa, para formar guanina libre; la adenosina puede experimentar una fosforolisis de este tipo, pero casi todos los datos conocidos indican que esta reacción vá precedida de una desaminación hidrolítica que la transforma en inosina, que se convierte en hipoxantina (base libre). El ácido adenilico, experimenta desaminación directa a ácido inosínico, aunque no se supone que esta sea la vía principal.

De acuerdo con la reacción que se esquematiza adelante para la adenina y la guanosina, encontramos como producto común la xantina que se forma por la acción oxidativa de la xantina deshidrogenasa sobre la hipoxantina, este producto común (xantina), se oxida, posteriormente por la xantina deshidrogenasa para formar el ACIDO URICO. Este es el producto final del catabolismo de las nucleo-proteínas en el organismo del hombre y algunos primates superior-

res; en otros mamíferos el ácido úrico es degradado, por la acción de la URICA SA (enzima de la que carecen los primates), a Alantoina.

De acuerdo con los investigadores, probablemente el sitio principal de la formación del ácido úrico, es el hígado, de ahí se absorbe por el torrente circulatorio, que lo transporta al riñón, por donde se excreta pasando a la orina, a través de los túbulos renales, siendo deficiente este último proceso en la gota, por lo que la cifra sanguínea se eleva.

FUENTES EXOGENAS DEL ACIDO URICO EN EL ORGANISMO : -

Son los alimentos que se ingieren, principalmente carnes, que lo proporcionan directamente al torrente circulatorio, para ser excretado por el aparato urinario. - Además otros alimentos contienen purinas y nucleoproteínas, pero se ha encontrado que individuos con dietas exentas de purinas y prolongadas, continúan eliminando ácido úrico y en buen estado de salud.

EXCRECION DE ACIDO URICO : Ha quedado establecido, que un organismo sano elimina, en un fondo común, aproximadamente 1 g. por día; esto se vé aumentado por causas patológicas, cuando el individuo presenta padecimientos gotosos, aumentando de 15 a 25 veces la eliminación normal. El aumento fisiológico generalmente se ve aumentado de acuerdo con la proporción de purinas ingeridas, por un lado, pero también se debe a otras causas por el aumento del catabolismo protéico, como en el ejercicio intenso o prolongado, en el aumento del metabolismo basal, en fiebre, en degeneración exagerada de tejidos (como anemia) con destrucción y catabolismo de las proteínas, principal-

mente nucleares, ya que la cromatina es rica en ácidos nucleicos.

La semi-desintegración del ácido úrico normalmente es menor a la dieta ingerida. Valiéndose de substancias que se degraden hasta ácido úrico, que sean marcadas con isotópos y valorando el ácido excretado por la orina, los isotópos recuperados no corresponden al total del administrado; suponiéndose que esto se debe a que se presenta descomposición bacteriana en el intestino.

FISIOLOGIA DEL ACIDO URICO .- PATOLOGIA . El aumento de la concentración de esta sustancia en la sangre, debido a estados febriles, y en general a aumentos de su formación, generalmente son discretos ya que el riñón tiene amplia capacidad de eliminación para el ácido, en cambio cuando presentan lesiones renales graves, su elevación sanguínea es notable.

El ácido urico es el componente nitrogenado más sensible a la insuficiencia renal, y cuando se presenta en forma progresiva rápida, su concentración sanguínea se eleva, aún cuando en la orina su cuantificación sea normal; en tanto que en trastornos eliminatorios lentos ambas elevaciones son casi simultáneas. Una idea de la rapidez de la evolución patológica, así como del tiempo de su aparición, la dan la relación de las concentraciones sanguíneas de la urea y del ácido úrico; por lo que la retención por insuficiencia eliminatoria puede ser: Pre-renal (trastornos circulatorios generales, o locales en la circulación renal aferente); Renales (en nefritis glomerular), o Post-renales (obstrucción parcial o total de las vías urinarias, eclampsia, etc.)

De los padecimientos en que intervienen perturbaciones del metabolismo de las purinas en el organismo, tenemos dos estados clínicos importantes: La

gota, y el infarto del ácido úrico en el riñón, ésta última debida a una alteración anatómica renal con solo importancia teórica; ambos estados están caracterizados por trastornos metabólicos del ácido úrico, que se produce excesivamente, por lo tanto se transporta en el suero y se deposita como uratos en diferentes tejidos corporales.

La gota además se caracteriza clínicamente por artritis recidivante; anatomopatológicamente por el depósito de uratos en diferentes partes del cuerpo, localizandose comunmente en las regiones intra-articulares, periarticulares, bolsas serosas y cartilagos del oído. Estos depósitos, llamados "Tofos", atacan con menor frecuencia al riñón y muy raramente a las válvulas cardiacas.

Este padecimiento muestra predilección neta por los varones, y suele presentarse en la madurez o decenios ultrteriores, habiéndose notado que en los anémicos no se presenta el padecimiento.

Normalmente una persona de cada cinco de procedencia gotosa, sufre el padecimiento; hay un número menor de enfermos con hiperúricemias, sin alteraciones clínicas y generalmente ni metabólicas.

Hay una marcada susceptibilidad a heredar la predisposición al padecimiento através de factores genéticos dominantes, singularmente en el hombre y en mucho menor grado en la mujer; que puede aparecer en la pubertad o poco después, sin hacerse manifiesta en forma brusca.

En la mujer, cuando llega a presentarse, es a una época más o menos cercana a la menopausia, sin duda por defectos o falta de funcionamiento ade

cuados en el metabolismo fundamentalmente de las purinas hasta la eliminación - del ácido úrico, de éste último se calcula que se elimina, en forma de uratos, - de 0.7 a 1.4 g. por día, en la orina, normalmente; en aquellas personas que su fren de ataques de gota, la cifra fácilmente puede duplicarse. En pacientes cró- nicos puede alcanzarse la excreción diaria hasta de 30 g. por día.

Claro, no siempre puede deberse a una sola de las condiciones, ya- que pueden reunirse : mínima destrucción, mayor formación y la capacidad para - destruir o metabolizar el áico úrico (Hoffman) discutiéndose ampliamente este pro- blema en la actualidad, ya que los investigadores opinan que para su resolución - se carece de fundamentos.

Tampoco se han comprobado cuales sean las dificultades existentes - para impedir su excreción en los gotosos, sin embargo debe admitirse que se hace a mayores niveles que en sujetos normales; otros afirman que hay disminución de - la filtración glomerular, o bien que hay un aumento de la reabsorción tubular, -- esto se traduce en retención de ácido úrico sérico.

En lo que todos, o casi todos los investigadores coinciden en aceptar que el mecanismo de la síntesis a partir de precursores sencillos, por sistemas anor- males en que no intervienen desintegraciones de purinas (Robecchi y Bellabio), no - explicando que la hiperúricemia y el fondo metabólico formen tofos en determina- dos sitios (cápsulas articulares y alrededores; cartilagos de la oreja, y otros ya -- enumerados), ya que ocasionalmente se observan hiperuricemias y no se localizan- estos tofos, suponiéndose que algunos mecanismos de tipo alérgido, preparan terre-

nos para depositarse el ácido úrico (como en el caso, que puede confundirse con padecimientos vesiculares de la colágena, dejando un amplio campo de estudio -- acerca de la etiología de la enfermedad.

Los tofos son depósitos blanquecinos, gredosos, rodeados de una zona inflamada. Las lesiones recientes, son pequeñas, granuladas, blanquecinas o -- grisáceas, que al progresar la enfermedad, se unen extendiéndose la mancha alrededor formando masas irregulares, cuando el depósito se forma en las cápsulas articulares, o bien, en tejidos blandos por ser tejidos elásticos, fácilmente se acomodan a menudo estos depósitos, se desintegran apareciendo grandes zonas que -- dan a la piel un aspecto de "mapas", otras veces, al erosionarse, los restos tófi--cos, llegan al hueso destruyéndolo, así como a la zona inflamada característica que se encuentra.

En el riñón pueden formarse depósitos de uratos, principalmente en las pirámides (nefritis gotosa), en la misma forma se depositan en las válvulas -- cardíacas y en otros lugares. Cualquiera que sea el lugar en que se formen estos todos, pueden identificarse fácilmente haciendo un estudio histológico, en donde se observa un depósito de cristales de urato sódico rodeado por una zona infla--mada de fibroblastos jóvenes mezclados con linfocitos; plasmocitos; macrófagos y células extrañas de tamaño gigante (esto es característico del tofo), en muchos -- casos estas células se deforman al rodear gránulos de uratos. Los cristales se observan en haces paralelos y como masas granuladas amorfas. Normalmente este es -- tudio no se hace, ya que requeriría de tomar una biopsia de muestra por lo que

se brindan escasas ocasiones para desarrollar esta técnica.

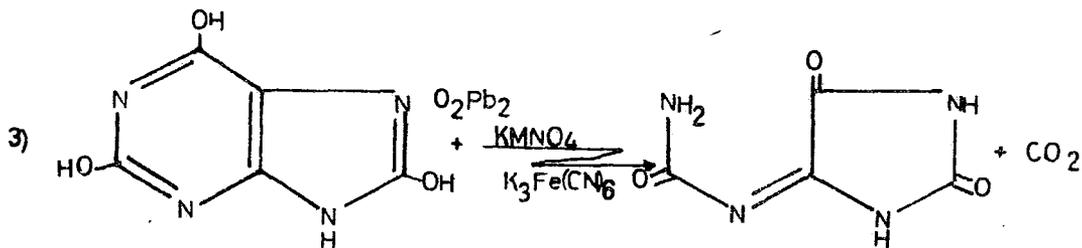
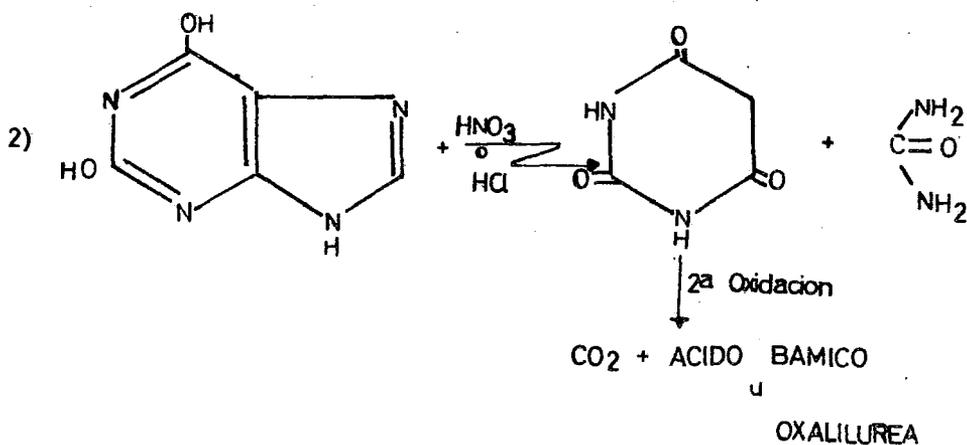
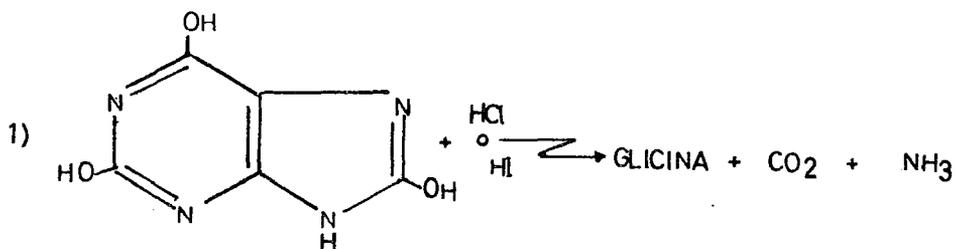
CURSO CLINICO.- Es un tipo de artritis aguda de aparición brusca que se presenta en la primera articulación metatarsica falángica, que se vuelve tumefáctica rojiza y caliente, dolorosa al tacto y al movimiento. En ocasiones afecta a otras articulaciones, con dolores reflejados, se presenta residivante y episódica (Mc Craken y Col.).

Estos padecimientos ocasionan generalmente destrucción de las superficies articulares para señalarnos artritis crónica, persistente y deformante, con la hipertensión escleroarteriosis, que inclusive puede llegar a arterioesclerosis renal; además de variados síntomas de complicaciones cardiovasculares. Se llega a presentar con el tiempo deficiencia renal que pasa a nefritis gotosa y pielonefritis sobreañadida.

Sin embargo para completar las bases etiológicas de estos padecimientos se tiene un amplio campo de estudios.

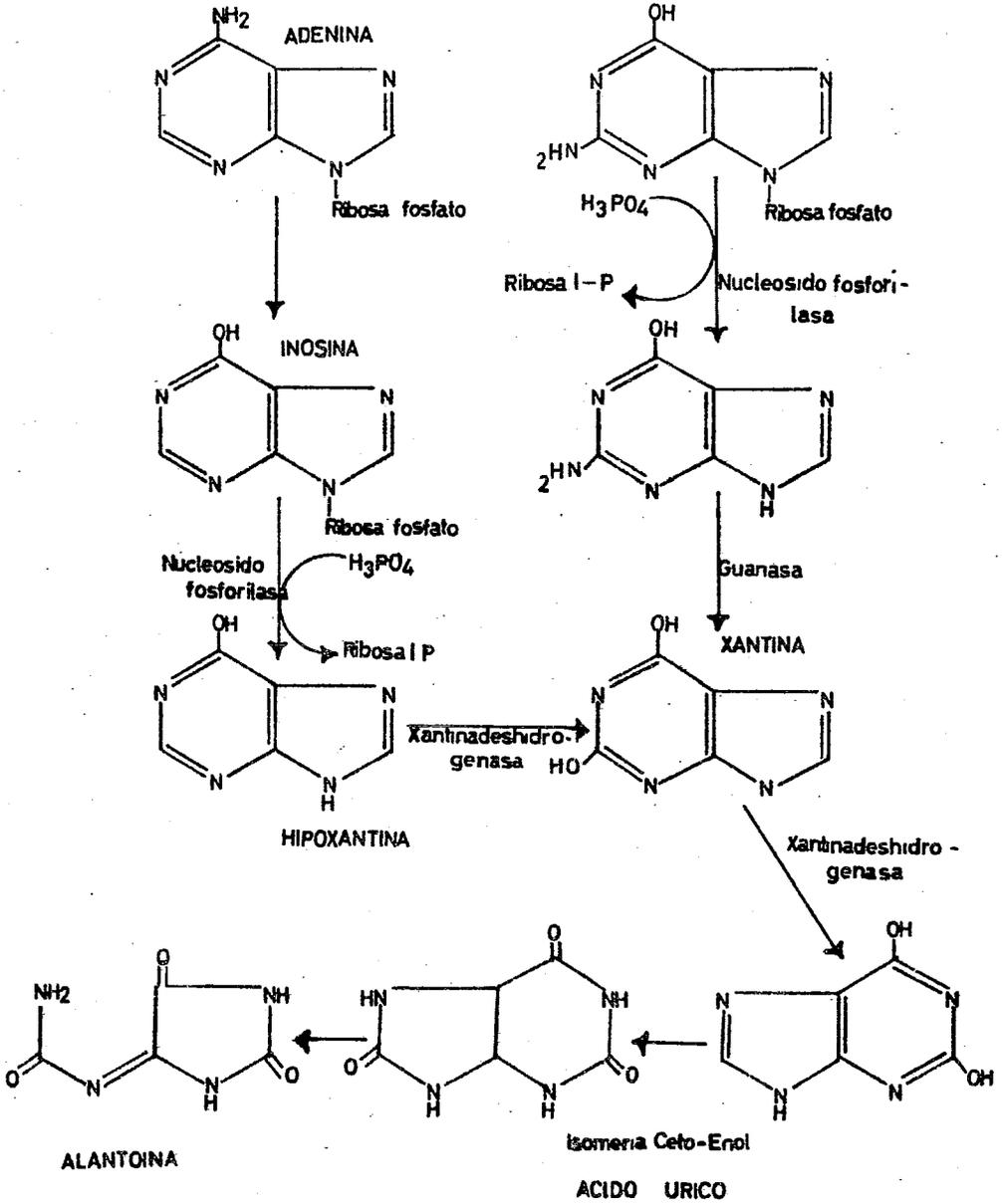
En otros aspectos, las anemias por exceso de destrucción de células sanguíneas; las leucemias y otros síndromes y padecimientos de este tipo, la liberación de ácidos nucleicos derivan a la producción de ácido úrico, y por lo tanto sus cifras de concentración se elevan.

PRINCIPALES REACCIONES QUIMICAS DEL
ACIDO URICO



DEGRADACION DE LAS BASES PURICAS HASTA

ACIDO URICO



CAPITULO II

MATERIAL Y METODOS.

La cuantificación del ácido úrico comprende generalmente : La reducción de algunos complejos del ácido fosfotúngstico por el ácido úrico, en presencia de compuestos que dan al medio de la reacción un pH medianamente alcalino, generalmente a 10.2/10.4. En estas condiciones se forma un complejo de color azul, que tiene como característica fundamental ser reproducible y cuantificable, lo que hace apropiado para técnicas colorimétricas.

Otras técnicas son bioquímicas, empleándose sustancias enzimáticas, la uricasa.

Entre las primeras se presentan una serie de ventajas y desventajas - que han sido estudiadas por diferentes investigadores, incluyéndose en este capítulo la mención de los siguientes :

Heilmeyer y Krebs, describen un método que usa Na_2CO_3 para llevar al pH óptimo para desarrollo del color; además de que para eliminar las proteínas emplea una solución de acetato de uranilo. Se conocen en la actualidad pocos detalles del desarrollo de las condiciones de tiempo de reacción; volúmenes de reactivos; temperatura; pH; etc.

Folin y Denis, determinan el ácido úrico con solución de Na_2CO_3 para alcalinizar, teniendo como desventaja el que produce precipitación de ácido fosfotúngstico que enturbia la solución y dificulta la medición del color. Los mismos autores estudiaron más a fondo su técnica y encontraron que la turbidez se evitaba usando oxalato de litio como anticoagulante, en lugar de oxalato de Na ó K, ó citratos.

Brown y colaboradores, sustituyeron el Na_2CO_3 por NaCN, el uso de este reactivo mejoró las cualidades de la técnica, hasta el momento la mejor desarrollada, pero con el inconveniente de alta concentración de NaCN, para ajustar a un pH determinado además del peligro por la alta toxicidad del cianuro.

Folin y Newton, adicionaron el cianuro a la urea, su empleo viene a reducir la concentración del cianuro, los grupos amígenos de la urea, le ayudan a tener un pH alto más estable, la formación de un reactivo (de Folin-Newton), más duradero mejor desarrollado y más sensible revolucionó por algún tiempo la tecnología de esta cuantificación, sin embargo no fué definitiva a pesar de ser este método el que se emplea con mayor frecuencia y mayor difusión en los -

Laboratorios de análisis clínicos, razón por la que es uno de dos métodos empleados en el desarrollo de este trabajo.

Nuevamente Brown trabajó, modificó sus reactivos, conociéndose su nuevo método como BROWN MODIFICADO ó BROWN MEJORADO, aumentó considerablemente la concentración de urea y cianuro, y la formación del ácido fosfotúngstico.

Benedict y colaboradores han hecho varias modificaciones a los métodos descritos por ellos, han propuesto la sustitución del ácido fosfotúngstico por ácido arsenotúngstico, indicando que este reactivo guarda mayor sensibilidad, estabilidad, y trabaja bien con Na_2CO_3 ó NaCN . Además estos autores informan que con este método es posible efectuar la valoración por técnicas titrimétricas, haciéndose una decoloración con agua de cloro, o con $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$.

En este trabajo se empleó uno de los métodos desarrollados por Benedict y colaboradores.

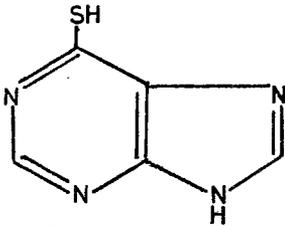
Para no pasar por alto su mención, indicamos el fundamento y el método de la uricasa, ya que se considera como de gran especificidad y otras ventajas que le hacen índice de mayores cualidades. Es un método patentado y por lo tanto solamente es posible conseguirlo en equipos preparados ya todos los reactivos, el método se debe a Buger y Johns.

Esencialmente consiste en una solución reguladora de Glicina 0.66 M, con un pH de 9.35; liofilizado de la URICASA: solución al 10% de ácido tricloroacético.

La uricasa se disuelve (5.0 mg.) en una solución reguladora de Glicina (10 ml.) y el desarrollo de la técnica es sencillo, se usan dos tubos de ensaye, uno para blanco y el otro para problema, a ambos se les vierten 0.25 ml. de suero y 0.25 ml. de regulador de glicina y 0.2 ml. de agua. Al problema -- adicionar 0.5 ml. de reactivo de uricasa e incubar ambos tubos 120 minutos a -- 37 ° C. Enfriar rápidamente y adicionar al blanco 0.5 ml. de uricasa (se tiene - en estas condiciones volúmenes iguales), ahora poner 2 ml. de ácido tricloroacético, reposar 20 minutos, centrifugar, decantar y ver en la gráfica previamente - desarrollada a 263 $m\mu$.

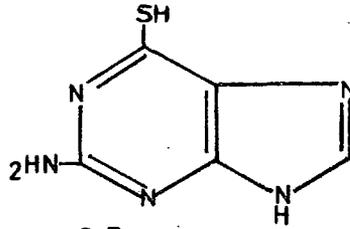
El desarrollo de color es simultáneo a la precipitación de las pro-- teínas.

Desgraciadamente, a pesar de que se había pensado que este método podría proporcionar los mejores resultados, no resultó tan satisfactorio y se ha observado que adolece de algunas fallas como son: La interferencia del ácido túngstico; su acción sobre el Acido 6 Tiourico (metabolito del 6 mercaptopurina), considerado hasta ahora como droga "anticancerigena"; no es útil para determinar el - Acido Urico excretado por la orina, ya que este líquido de excreción contiene -- inhibidores y también interferentes.

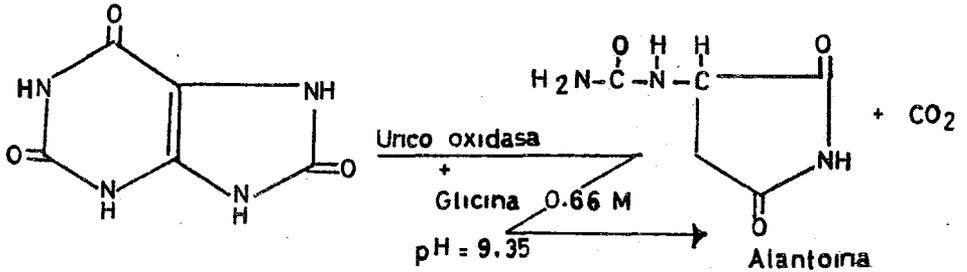


6 Mercapto purina

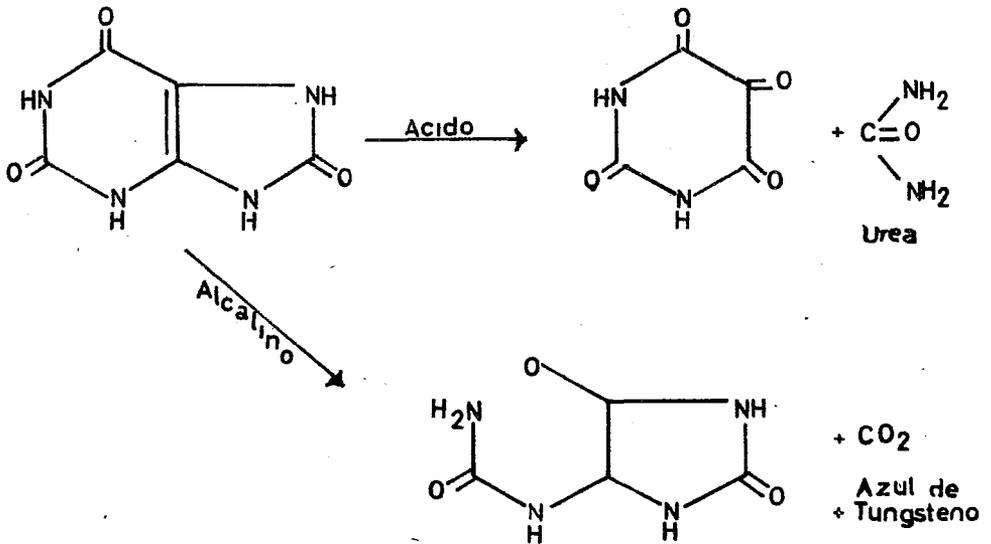
Su acción es como enzima oxidasa.



6 Tioguanina



Conviene así mismo mencionar que los otros métodos se basan en las reacciones siguientes :



En estas reacciones, generalmente la cuantificación se hace en filtrado sanguíneo y por el carácter amino-ácido que tiene el compuesto, precipitan pequeñas cantidades del mismo, lo que da como resultado que se obtengan valores ligeramente bajos.

Hay sustancias como la tioneína, que cuando aumenta su concentración sanguínea puede elevar los resultados hasta en 25 mg/100 ml. o más.

Otro tipo de errores que intervienen afectando los resultados, son:

- 1) Factores de error personal.
- 2) Limpieza del material, que debe estar lavado químicamente y enjuagado a la perfección.
- 3) Los reactivos que se usan, generalmente deben ser preparados en el momento de usarse, ya que de otra forma se descomponen.
- 4) Conservar los reactivos en el refrigerador para evitar su descomposición.
- 5) En algunas ocasiones y a determinadas longitudes de onda, el color azul de la reacción se hace difícilmente comparable.
- 6) Calidad del material de Laboratorio empleado en equipo de medición.
- 7) En los métodos que emplean NaCN, la calidad de este reactivo es determinante en el desarrollo del color obtenido.
- 8) Otros varios que pueden presentarse ocasionalmente.

Lógicamente, al desarrollarse el presente trabajo en el Hospital - Infantil de México, las muestras para estudio se tomaron a pacientes internados y de consulta externa que acudían al servicio regular, extrayendo sangre venosa -- que se vertía en un tubo con oxalato de sodio, como anticoagulante, por centrifugación a 3000 r.p.m., 5 a 10 minutos, se separó el plasma que nos sirvió para el desarrollo del trabajo de laboratorio.

De cada muestra se efectuaban ambos métodos estudiados, que se leyeron en espectrofotómetro Coleman Junior Modelo 6A, empleando adaptador - de cubetas de 19 mm. \varnothing , y cubetas de 10 x 105 mm. a tres diferentes longitudes de onda cada método. Los resultados obtenidos se ven en tablas que adelante se insertan.

Para el desarrollo de las técnicas modificamos los volúmenes de - filtrado y reactivos, sin alterar las relaciones que los autores indican para no te - ner interferencias o motivos que tengan consecuencias determinantes en nuestros - resultados, como ejemplo indicamos dos variables : Las técnicas originales señalan que deben emplearse 5 ml. de filtrado, nosotros usamos únicamente 2 ml.; el volumen final de dilución en el tubo es de 25 ml., en nuestra práctica diluimos a 10 ml., con ello no se han modificado las relaciones, pues mientras la técnica original indica 5 ml. de filtrado a 25 ml. nosotros elevamos 2 ml. de filtrado a 10 ml., y la relación en ambos casos es de 1 a 5.

TECNICA DE DESPROTEINIZACION

METODO DE FOLIN HADEN :

Material químico :

a) Solución N/12 de H_2SO_4 H_2SO_4 2.5 ml. H_2O , c.b.p. 1000 ml.b) Solución de Na_2WO_4 al 10 % $Na_2WO_4 \cdot H_2O$ (según Folin) 10 g. H_2O , c.b.p. 1000 ml.

Material de Laboratorio :

a) Erlenmeyer de 50 ml.

b) Embudos.

c) Pipetas graduadas de 1 de 5 y de 10 ml.

d) Tubos de ensaye de 20 x 200 mm

e) Papel filtro poro mediano.

Material Biológico :

Suero Sanguíneo.

Procedimiento :

En un Erlenmeyer verter :

 H_2SO_4 N/12 4 vols.

Suero Sanguíneo 1 vol.

 H_2O , 4.5 vols.

$\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ al 10%

0.5 vols.

Al adicionar el suero al ácido se agita para mez
clar, en las mismas condiciones se procede cada-
vez que se le adicionan los siguientes reactivos.
Filtrar através de papel filtro limpio y seco. El-
filtrado se empleará para proceder a la determi-
nación, quedando una dilución de 1 a 10.

TECNICAS PARA CUANTIFICACION

METODO DE FOLIN - NEWTON.

Material químico :

a) Reactivo de Folin - Newton :

$\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	100 g.
H_2O	500 ml.
As_2O_5	140 g.
Mezclar para disolver.	
Reflujar,	1 hora
Quitar el condensador y continuar la ebullición para reducir el volumen a	200 ml.
LiCl	100 g.

Vaciarlos a vaso de precipitado de 600 ml. y vaciar sobre el LiCl la solución caliente. Llevar al refrigerador por 1.5 á 2 horas.

Filtrar en Buchner, bajando del vaso todo el precipitado con la solución filtrada (no hacerlo con agua debido a que el Arseno - Tungstato se disuelve y se pierde).

Rendimiento aproximado 130 g. después de secado al vacío sobre Buchner. Disolverlo en -- agua.

H_2O c.b.p.	1000 ml.
-----------------------------	----------

b) Solución de Ciano - Úrea

Urea	20 g.
H ₂ O c.b.p.	100 ml.

c) NaCN	5 g.
Solución de Urea al 20 %, c.b.p.	100 ml.

Guardar en refrigerador.

Estabilidad 24 horas.

Por su inestabilidad se procedió a modificar su preparación en la siguiente forma :

Solución A.

Urea	40 g.
H ₂ O c.b.p.....	100 ml.

Solución B.

NaCN	40 g.
H ₂ O, c.b.p.....	100 ml.

Para utilizarse se mezclan volúmenes iguales de Solución A y Solución B, en la cantidad necesaria para el número de determinaciones que se harán en el trabajo rutinario.

Solución Patrón de Acido Úrico : Concentración 1mg/ml.

Li ₂ CO ₃	600 mg.
H ₂ O	150 ml.

Calentar a 60° y agitar para disolver. Filtrar y recibir en matraz aforado de 1000 ml.

Acido Urico Q. P.	1 g.
Agitar para disolver, si es necesario mantener a 60°	
H ₂ O, c.b.p.	500 ml.
Formol al 37 %	20 ml.
H ₂ SO ₄ Sol. N.	25 ml.
H ₂ O, c.b.p.	1000 ml.

Solución tipo : Concentración 0.01 mg/ml.

Solución patrón	1 ml.
H ₂ O, c.b.p.	100 ml.

Material de Laboratorio.

- Tubos de ensaye de 20 x 200 mm.
- Pipetas graduadas de 1, de 5 y 10 ml.
- Espectrofotómetro (Coleman Junior 6A)
- Celdillas de 19 x 125. mm.

Material Biológico :

Suero Desproteínizado.

Procedimiento :

Filtrado sérico	2 ml.
Reactivo Ciano - Urea	1.2 ml.

Reactivo Folin Newton	0.4 ml.
H ₂ O, c.b.p.	10.0 ml.
Reposar	

Leer contra blanco de reactivos a la longitud de onda especificada por nuestros espectrogramas realizados como se describe adelante.

En la técnica original se indica que el formal que debe usarse es al 40 %, en nuestro trabajo, se empleó al 37 %, como viene etiquetado el frasco de reactivo Merck.

METODO DE BENEDICT.

Material químico :

a) Reactivo de Benedict.

$\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	10 g.
H_2O	60 ml.
Acido Arsénico	5.0 g.
Acido Fosfórico al 85 %	2.5 ml.
Acido Clorhidrico conc.	2.0 ml.

Hervir por espacio de 20 minutos.

Enfriar.

H_2O , c.b.p.	100 ml.
------------------------------------	---------

b) Solución de Cianuro de Sodio.

NaCN	5.0 g.
NH_4OH	0.2 ml.
H_2O , c.b.p.	100 ml.

Solución Patrón de Acido Urico : Concentración 1 mg/ml.

Se utilizó la misma que se preparó como ya -
se indicó en la técnica de Folin Newton.

Solución Tipo : Concentración 0.01 mg/ml.

Se utilizó la misma que para la técnica de --
Folin Newton, preparada en las condiciones -
antes descritas.

Material de Laboratorio :

- a) Tubos de ensayo de 20 x 200 mm.
- b) Pipetas graduadas de 1, de 5 y de 10 ml.
- c) Espectrofotómetro (Coleman Junior 6A)
- d) Celdillas de 19 mm.

Material Biológico :

Suero desproteínizado.

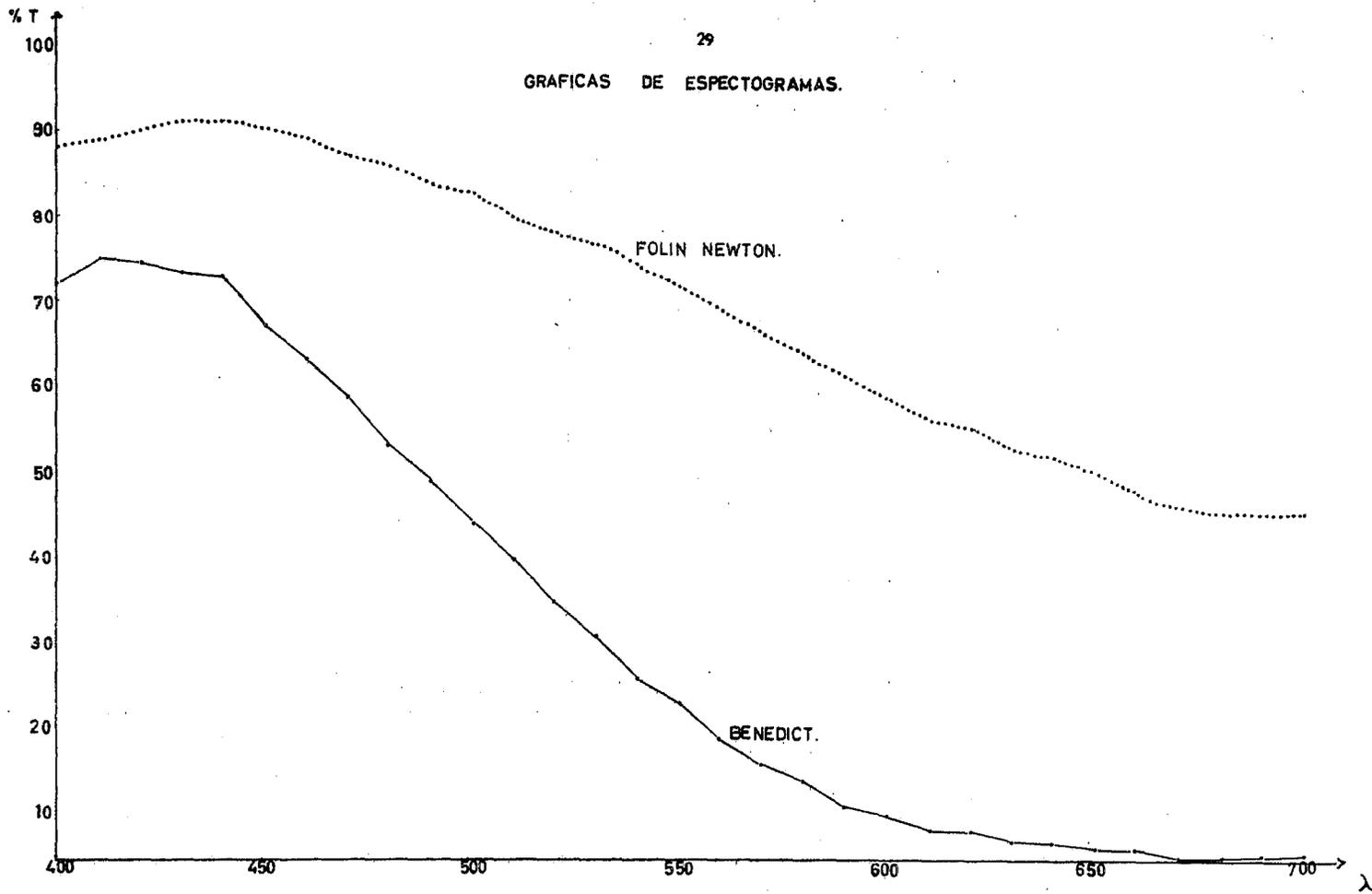
Procedimiento :

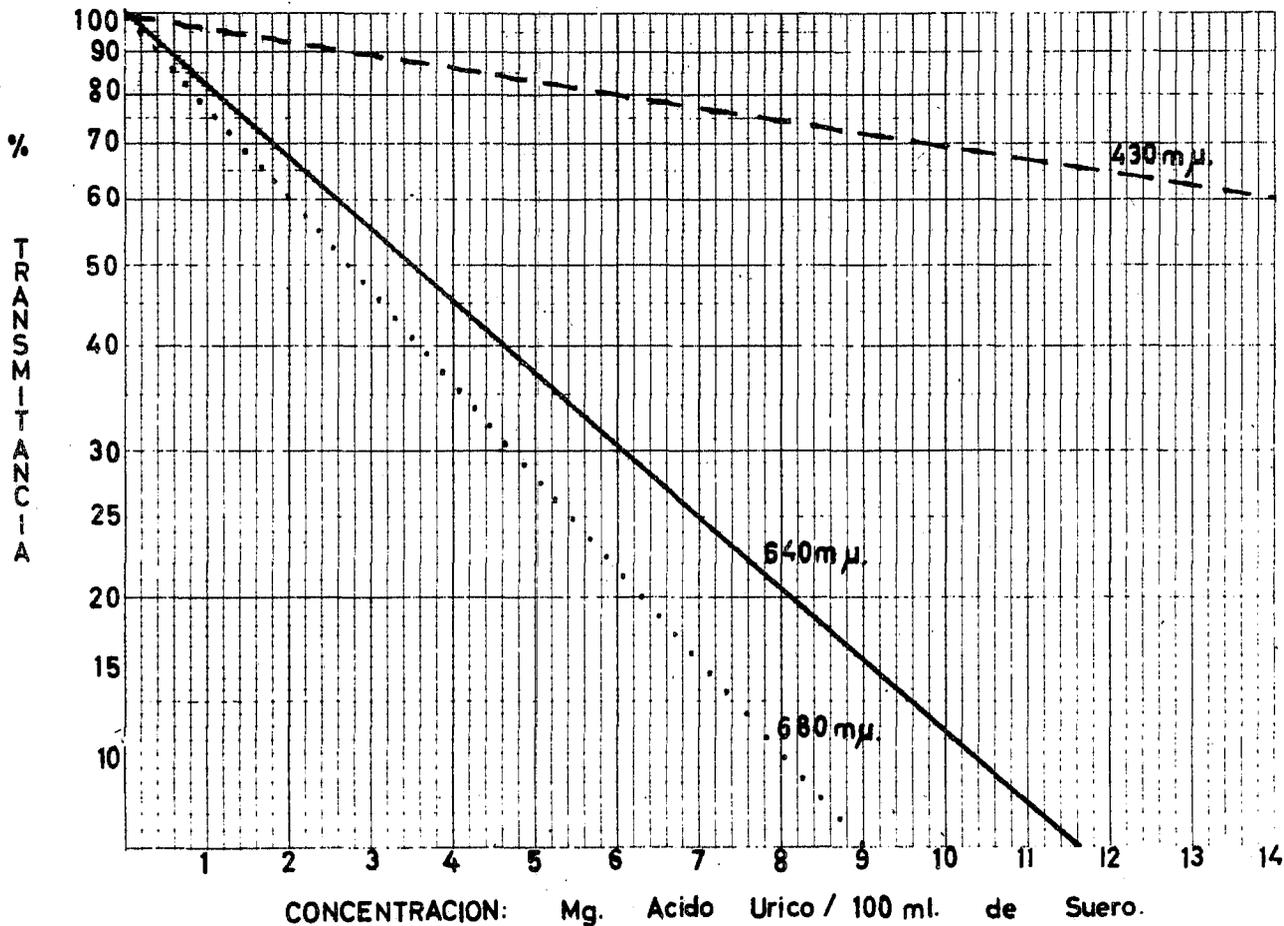
Filtrado sérico	2.5 ml.
Cianuro de Sodio	2.0 ml.
Reactivo de Benedict	0.5 ml.
H ₂ O, destilada	2.5 ml.

Calentar en un baño maría a 100°C durante -
3 minutos. Enfriar en un baño de hielo inme-
diatamente después durante tres minutos.

Leer contra blanco de reactivos a la longitud
de onda especificada por nuestros espectrogra-
mas realizados como se describe adelante.

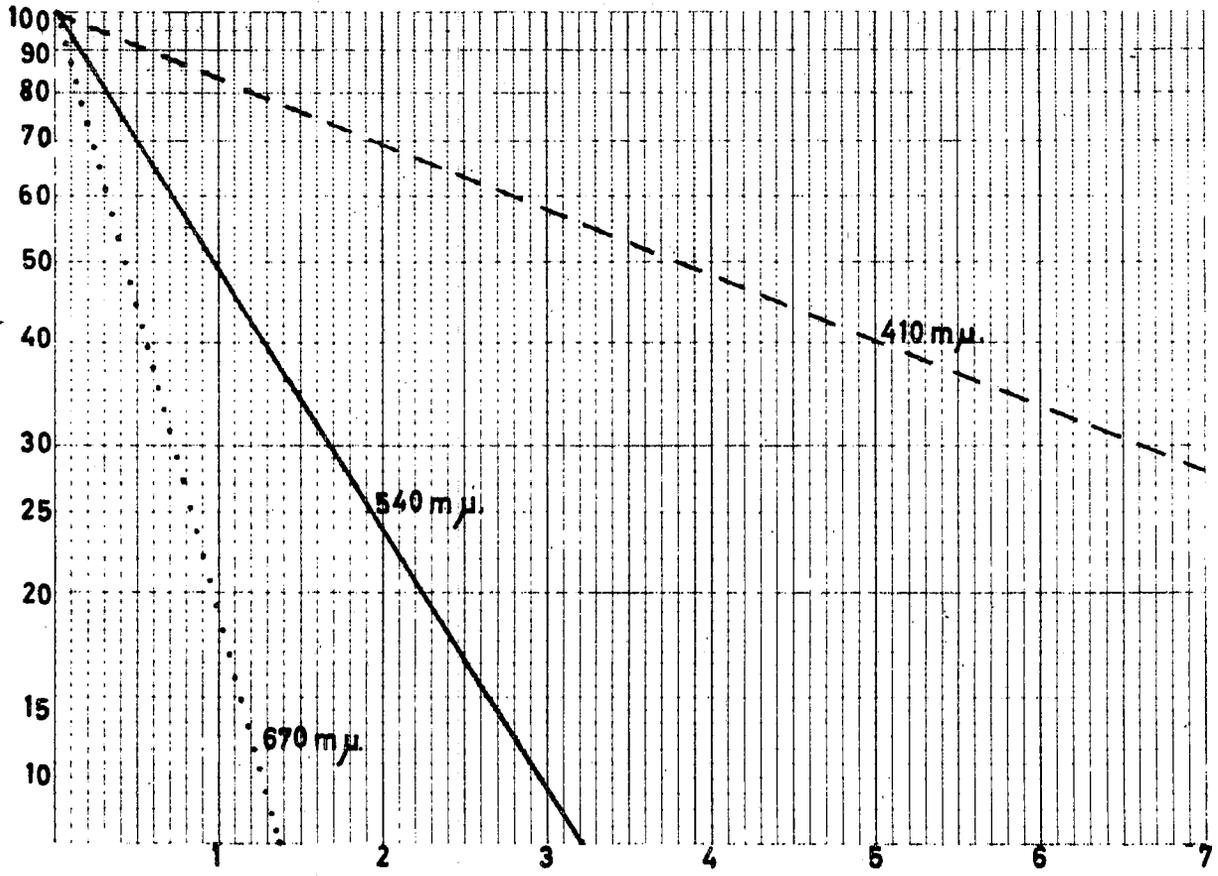
GRAFICAS DE ESPECTOGRAMAS.





GRAFICA DE CALIBRACION DEL METODO DE FOLIN NEWTON.

%
TRANSMITANCIA



GRAFICA DE CALIBRACION DEL METODO DE BENEDICT.

CAPITULO III

RESULTADOS :

En las páginas siguientes se exponen los resultados agrupándolos - en tablas, y las columnas están encabezadas por las siglas y significado siguientes :

f = frecuencia.

f_a = frecuencia acumulada.

x = resultados obtenidos.

$x - \bar{x}$ = diferencia del resultado con el promedio.

$(x - \bar{x})^2$ = cuadrado de las diferencias obtenidas.

Al final se anotan :

$\sum x$ = suma de los resultados.

\bar{x} = promedio.

$\sum (x - \bar{x})^2$ = Suma de los cuadrados de las diferencias.

En el capítulo IV se indicarán las fórmulas que utilizamos para analizar estadísticamente estos resultados.

R E S U L T A D O S Y C A L C U L O S
 M E T O D O D E F O L I N - N E W T O N : 430 m μ

f	fa	x	$x - \bar{x}$	$(x - \bar{x})^2$
1	1	0.30	-2.51	6.3001
1	2	0.50	-2.31	5.3361
6	8	0.80	-2.01	4.0401
10	18	1.01	-1.81	3.2761
18	36	1.60	-1.21	1.4641
40	76	1.80	-1.01	1.0201
53	129	2.00	-0.81	0.6581
52	181	2.20	-0.61	0.3721
63	244	2.60	-0.21	0.0441
53	297	3.00	0.19	0.0361
42	339	3.30	0.49	0.2401
27	366	3.60	0.79	0.6241
27	393	4.00	1.19	1.4161
22	415	4.20	1.39	1.9321
17	432	4.60	1.79	3.2041
8	440	4.90	2.09	4.3681
2	442	5.20	2.39	5.7121
2	444	5.50	2.69	7.2361
1	445	5.80	2.99	8.9401
2	447	6.00	3.19	10.1761
1	448	6.60	3.79	14.3641

R E S U L T A D O S Y C A L C U L O S

M E T O D O D E F O L I N - N E W T O N: 640 μ .

f	fa	x	x - \bar{x}	(x - \bar{x}) ²	f	fa	x	x - \bar{x}	(x - \bar{x}) ²
2	2	0	-2.78	7.7284	13	259	2.80	-0.02	0.0004
1	3	0.26	-2.52	6.3504	19	278	2.90	0.12	0.0144
1	4	0.73	-2.05	4.2025	10	288	3.00	0.22	0.0484
1	5	0.80	-1.98	3.9204	19	307	3.10	0.32	0.1024
2	7	1.00	-1.78	3.1684	6	313	3.20	0.42	0.1764
5	12	1.06	-1.72	2.9584	8	321	3.30	0.52	0.2704
1	13	1.26	-1.52	2.3104	8	329	3.40	0.62	0.3844
3	16	1.33	-1.45	2.1025	11	340	3.50	0.72	0.5184
6	22	1.40	-1.38	1.9044	17	357	3.60	0.82	0.6724
7	29	1.46	-1.32	1.7424	17	374	3.70	0.92	0.8474
7	36	1.53	-1.25	1.5625	9	383	3.80	1.02	1.0404
5	41	1.60	-1.18	1.3924	8	391	3.90	1.12	1.2544
5	46	1.66	-1.12	1.2544	9	400	4.00	1.22	1.4884
9	55	1.73	-1.05	1.1025	9	409	4.10	1.32	1.7424
15	70	1.80	-0.98	0.9604	6	415	4.20	1.42	2.0164
11	81	1.86	-0.92	0.8464	6	421	4.40	1.62	2.6244
11	92	1.90	-0.88	0.7744	9	430	4.50	1.72	2.9584
12	104	2.00	-0.78	0.6084	3	433	4.60	1.82	3.3124
13	117	2.06	-0.72	0.5184	3	436	4.70	1.92	3.6864
19	136	2.10	-0.68	0.4624	5	441	4.80	2.02	4.0804
15	151	2.20	-0.58	0.3364	1	442	5.10	2.32	5.3824
11	162	2.30	-0.48	0.2364	1	443	5.20	2.42	5.8564
18	180	2.40	-0.38	0.1444	1	444	5.60	2.82	7.9524
32	212	2.50	-0.28	0.0784	1	445	5.80	2.22	4.9284
12	224	2.60	-0.18	0.0324	1	446	6.06	3.28	10.7584
10	234	2.66	-0.12	0.0144	2	448	6.40	3.62	13.1044
12	246	2.70	-0.08	0.0064					

R E S U L T A D O S Y C A L C U L O S

M E T O D O D E F O L I N - N E W T O N : 680 m μ .

f	fa	x	x- \bar{x}	(x- \bar{x}) ²	f	fa	x	x- \bar{x}	(x- \bar{x}) ²
2	2	0	-2.65	7.0225	13	238	2.53	-0.12	0.0144
1	3	0.26	-2.39	5.7121	10	248	2.66	0.01	0.0001
1	4	0.66	-1.99	3.9601	14	262	2.70	0.05	0.0025
1	5	0.86	-1.79	3.2041	17	279	2.80	0.15	0.0225
3	8	0.93	-1.72	2.9584	12	291	2.86	0.21	0.0441
2	10	1.00	-1.65	2.7225	11	303	2.93	0.28	0.0784
1	11	1.06	-1.59	2.5881	11	313	3.06	0.41	0.1681
1	12	1.13	-1.52	2.3104	13	326	3.13	0.48	0.2304
3	15	1.20	-1.45	2.1025	6	332	3.20	0.55	0.3025
3	18	1.26	-1.39	1.9321	10	342	3.33	0.68	0.4624
6	24	1.33	-1.32	1.7424	11	353	3.40	0.75	0.5625
11	35	1.40	-1.25	1.5625	16	369	3.53	0.88	0.7744
6	41	1.46	-1.19	1.4161	12	381	3.60	0.95	0.9025
6	47	1.53	-1.12	1.2544	9	390	3.66	1.01	1.0201
3	50	1.60	-1.05	1.1025	8	398	3.80	1.15	1.3225
7	57	1.66	-0.99	0.9801	7	405	3.93	1.28	1.6384
7	64	1.70	-0.95	0.9025	10	415	4.00	1.35	1.8825
14	78	1.80	-0.85	0.7225	4	419	4.13	1.48	2.1904
8	86	1.86	-0.79	0.6241	8	427	4.20	1.55	2.4025
12	98	1.93	-0.72	0.5184	5	432	4.33	1.68	2.8224
19	117	2.00	-0.65	0.4225	4	436	4.46	1.81	3.2761
11	128	2.06	-0.59	0.3481	3	439	4.60	1.95	3.8025
12	140	2.13	-0.52	0.2704	3	442	4.70	2.05	4.2025
14	154	2.20	-0.45	0.2025	1	443	5.00	2.35	5.5225
16	170	2.26	-0.39	0.1521	1	444	5.60	2.95	8.7025
24	194	2.33	-0.32	0.1024	1	445	5.70	3.05	9.3025
16	210	2.40	-0.25	0.0625	2	447	5.90	3.25	10.5625
15	225	2.46	-0.19	0.0361	1	448	6.06	3.41	11.6281

R E S U L T A D O S Y C A L C U L O S

M E T O D O D E B E N E D I C T : 410 m μ .

f	fa	x	$x-\bar{x}$	$(x-\bar{x})^2$	f	fa	x	$x-\bar{x}$	$(x-\bar{x})^2$
1	1	0.0	-1.36	1.8496	8	328	1.70	0.34	0.1156
2	3	0.03	-1.33	1.7689	10	338	1.80	0.44	0.1936
1	4	0.06	-1.30	1.6900	18	356	1.93	0.57	0.3249
3	7	0.13	-1.23	1.5129	14	370	2.00	0.64	0.4096
1	8	0.20	-1.16	1.3452	4	374	2.06	0.70	0.4900
4	12	0.26	-1.10	1.2100	8	382	2.13	0.77	0.5929
2	14	0.33	-1.03	1.0609	10	392	2.26	0.90	0.8100
6	20	0.36	-1.00	1.0000	8	400	2.33	0.97	0.9409
8	28	0.40	-0.96	0.9216	3	403	2.40	1.04	1.0816
10	38	0.46	-0.90	0.8100	8	411	2.46	1.10	1.2100
6	44	0.53	-0.83	0.6889	3	414	2.60	1.24	1.5376
17	61	0.60	-0.76	0.5776	4	418	2.66	1.30	1.6900
18	79	0.66	-0.70	0.4900	4	422	2.80	1.44	2.0736
31	110	0.70	-0.66	0.4356	3	425	2.86	1.50	2.2500
27	137	0.80	-0.56	0.3136	3	428	3.00	1.64	2.6896
13	150	0.86	-0.50	0.2500	2	430	3.06	1.70	2.8900
29	179	0.93	-0.43	0.1849	3	433	3.13	1.77	3.1329
22	201	1.00	-0.36	0.1296	2	435	3.26	1.90	3.6100
22	223	1.06	-0.30	0.0900	4	439	3.40	2.04	4.1616
11	234	1.13	-0.23	0.0529	2	441	3.46	2.10	4.4100
16	250	1.26	-0.10	0.0100	1	442	3.53	2.17	4.7089
19	269	1.33	-0.06	0.0036	1	443	4.00	2.64	6.9696
13	282	1.40	0.04	0.0016	2	445	4.26	2.90	8.4100
14	296	1.46	0.10	0.0100	1	446	5.20	3.85	14.8225
11	307	1.53	0.17	0.0289	1	447	5.93	4.57	20.8849
6	313	1.60	0.24	0.0576	1	448	8.06	6.57	44.8900
7	320	1.66	0.30	0.0900					

R E S U L T A D O S Y M E T O D O S

M E T O D O D E B E N E D I C T : 540 m μ

f	fa	x	$x-\bar{x}$	$(x-\bar{x})^2$	f	fa	x	$x-\bar{x}$	$(x-\bar{x})^2$
1	1	0.18	-0.80	0.64	18	263	0.96	-0.02	0.0004
1	2	0.22	-0.76	0.5776	4	267	1.00	0.02	0.0004
1	3	0.23	-0.75	0.5625	10	277	1.03	0.05	0.0025
2	5	0.26	-0.72	0.5184	13	290	1.06	0.08	0.0064
1	6	0.31	-0.67	0.4489	7	297	1.09	0.11	0.0121
3	9	0.33	-0.65	0.4225	14	311	1.13	0.15	0.0225
1	10	0.35	-0.63	0.3969	11	322	1.16	0.18	0.0324
3	13	0.37	-0.61	0.3721	8	330	1.20	0.22	0.0484
2	5	0.40	-0.58	0.3364	11	341	1.23	0.25	0.0625
1	16	0.43	-0.55	0.3025	15	356	1.26	0.28	0.0784
1	17	0.46	-0.52	0.2704	23	379	1.29	0.31	0.0961
4	21	0.48	-0.50	0.2500	4	383	1.33	0.35	0.1225
3	24	0.49	-0.49	0.2401	10	393	1.36	0.38	0.1444
6	30	0.51	-0.47	0.2209	9	402	1.40	0.42	0.1764
10	40	0.53	-0.45	0.2025	5	407	1.43	0.45	0.2025
6	46	0.54	-0.44	0.1936	2	409	1.46	0.48	0.2304
6	52	0.56	-0.42	0.1764	5	414	1.50	0.52	0.2704
12	64	0.58	-0.40	0.1600	2	416	1.50	0.55	0.3025
6	70	0.60	-0.38	0.1444	1	417	1.60	0.62	0.3844
7	77	0.63	-0.35	0.1225	5	422	1.66	0.68	0.4624
10	87	0.66	-0.32	0.1024	3	425	1.68	0.70	0.4900
8	95	0.67	-0.31	0.0961	1	426	1.70	0.72	0.5184
12	107	0.68	-0.30	0.0900	3	429	1.80	0.82	0.6724
14	121	0.69	-0.29	0.0841	1	430	1.86	0.88	0.7744
7	128	0.70	-0.28	0.0784	2	432	1.93	0.95	0.9025
17	145	0.75	-0.23	0.0529	4	436	1.96	0.78	0.9604
12	157	0.80	-0.18	0.0324	4	440	2.00	1.02	1.0404
14	171	0.82	-0.16	0.0256	3	443	2.06	1.08	1.1664
17	188	0.84	-0.14	0.0196	1	444	2.13	1.15	1.3225
9	197	0.86	-0.12	0.0144	2	446	2.26	1.28	1.6384
12	209	0.88	-0.10	0.0100	1	447	2.33	1.35	1.8225
17	226	0.90	-0.08	0.0064	1	448	2.60	1.62	2.6244
19	245	0.93	-0.05	0.0025					

R E S U L T A D O S Y C A L C U L O S

M E T O D O D E B E N E D I C T : 670 m μ

f	fa	x	x- \bar{x}	(x- \bar{x}) ²	f	fa	x	x- \bar{x}	(x- \bar{x}) ²
1	1	0.24	-0.66	0.4356	9	141	0.72	-0.18	0.0324
1	2	0.27	-0.63	0.3969	13	154	0.73	-0.17	0.0289
4	6	0.28	-0.62	0.3844	12	166	0.76	-0.14	0.0196
1	7	0.30	-0.60	0.3600	17	183	0.78	-0.12	0.0154
2	9	0.31	-0.59	0.3481	15	198	0.80	-0.10	0.0100
4	13	0.33	-0.57	0.3249	16	214	0.82	-0.08	0.0064
3	16	0.36	-0.54	0.2916	10	224	0.85	-0.05	0.0025
4	20	0.37	-0.53	0.2809	26	250	0.87	-0.03	0.0009
5	25	0.38	-0.52	0.2704	18	268	0.90	0.00	0.0000
1	26	0.39	-0.51	0.2601	8	276	0.93	0.03	0.0009
1	27	0.42	-0.48	0.2304	16	292	0.97	0.07	0.0049
4	31	0.43	-0.47	0.2209	18	310	1.00	0.10	0.0001
2	23	0.45	-0.45	0.2025	10	320	1.03	0.13	0.0169
2	35	0.47	-0.43	0.1849	11	331	1.07	0.17	0.0289
4	39	0.48	-0.42	0.1764	29	360	1.10	0.20	0.0400
7	46	0.50	-0.40	0.1600	14	374	1.15	0.25	0.0625
5	51	0.52	-0.38	0.1444	7	381	1.19	0.29	0.0841
12	63	0.53	-0.37	0.1369	14	395	1.23	0.33	0.1089
4	67	0.55	-0.35	0.1225	9	404	1.38	0.48	0.2304
8	75	0.56	-0.34	0.1158	14	418	1.43	0.53	0.2809
5	80	0.58	-0.32	0.1024	2	420	1.50	0.60	0.3600
8	88	0.59	-0.31	0.0961	7	427	1.58	0.68	0.4624
5	93	0.61	-0.29	0.0841	3	430	1.67	0.77	0.5929
7	100	0.62	-0.28	0.0784	6	436	1.77	0.87	0.7569
12	112	0.64	-0.26	0.0676	9	445	1.88	0.98	0.9604
5	117	0.68	-0.22	0.0484	2	447	2.05	1.15	1.3225
8	125	0.68	-0.24	0.0576	1	448	2.28	1.38	1.9044
7	132	0.70	-0.20	0.0400					

CAPITULO IV

INTERPRETACION Y DISCUSION DE LOS RESULTADOS.

Con las tablas de resultados preparadas y presentadas en el Capítulo anterior, se efectuarán los cálculos estadísticos, empleando las siguientes fórmulas :

n = Es el número de muestras analizadas.

Σx = Suma de resultados obtenidos.

\bar{x} = $\frac{\Sigma x}{n}$ Promedio aritmético de los resultados.

$x - \bar{x}$ = Diferencia de cada resultado obtenido, con el promedio aritmético.

$(x - \bar{x})^2$ = Diferencia (anterior), al cuadrado.

$\sum (x - \bar{x})^2$ = Suma del cuadrado de las diferencias.

$V = \frac{(x - \bar{x})^2}{n - 1}$ Varianza, que corresponde al cuadrado de la -
d. s.

d.s. = $\frac{(x - \bar{x})^2}{n - 1}$ Desviación estandar.

e.s. = $\frac{d. s.}{n}$ Error estandar.

VALORES DE ACEPTACION :

$\bar{x} \pm d. s.$ = Valores en el 2º momento. (Min. 68 %)

$\bar{x} \pm 2 d. s.$ = Valores en el 3er. momento (Min. 95 %)

PRUEBAS DE CORRELACION :

Prueba de S = $\frac{VM}{Vm}$ VM. = Varianza Mayor.

Vm. = Varianza Menor.

Prueba de t :

$t = \frac{\bar{X}_m - \bar{X}_M}{\sqrt{eM^2 + em^2}}$ En donde \bar{X}_M = Promedio Mayor
 \bar{x}_m = Promedio Menor.

eM = Error estandar Mayor.

em = Error estandar Menor.

Estas fórmulas nos dan los resultados de las pruebas experimentales, para las técnicas se consultan las tablas correspondientes.

Se seguirá además la secuela siguiente :

- 1o. Se analizarán los resultados de cada método respecto de la longitud de onda λ que fueron leídos los problemas.
- 2o. De la elección que resulte de cada uno de los dos métodos analizados, se hará la comparación de ambos métodos.
- 3o. Se establecerá de la comparación en el segundo punto, el razonamiento en conclusiones.

CALCULO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

METODO DE FOLIN-NEWTON :

m μ	430	640	680
n	448	448	448
$\sum x$	1259.00	1294.98	1186.31
\bar{x}	2.81	2.78	2.65
$\sum (x - \bar{x})^2$	461.2528	418.6068	393.6689
V	1.03188	0.9385802	0.880691
d. s.	1.01581	0.968803	0.9384515
2 d. s.	2.03162	1.927606	1.876903
e. s.	0.048	0.044	0.044
$\bar{x} + d. s.$	3.72	3.74	3.59
$\bar{x} - d. s.$	1.79	1.82	1.71
n Límite aceptación	330.	319.	305.
% Límite aceptación	73.66 %	71.21 %	68.08 %
n Superiores al límite	82	74	79
% Superiores al límite	18.30 %	16.52 %	17.63 %
n Inferiores al límite	36	55	64
% Inferiores al límite	8.04 %	12.27 %	14.29 %
$\bar{x} + 2 d.s.$	4.84	4.71	4.53
$\bar{x} - 2 d.s.$	0.78	0.85	0.77
n. L. a.	430.	431.	432.
%	95.98 %	96.21 %	96.43 %
n. s. L. a.	16	12	12
%	3.57 %	2.68 %	2.68 %
n. i. L. a.	2	5	4
%	0.45 %	1.11 %	0.89 %

CALCULO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

METODO DE BENEDICT

m	410	540	670
n	448	448	448
$\sum x$	610.66	439.76	402.69
\bar{x}	1.3631	0.9816	0.8989
$\sum (x-\bar{x})^2$	342.9932	66.1787	54.6715
V	0.7673225	0.1480507	0.1223076
d. s.	0.8759695	0.3848736	0.3497242
2 d. s.	1.751939	0.7697472	0.694484
e. s.	0.0415	0.0181	0.0165
$\bar{x} + d. s.$	2.24	1.36	1.250
$\bar{x} - d. s.$	0.48	0.60	0.550
n Límite de aceptación	344	329	332
% Límite de aceptación	76.79 %	73.44 %	74.11 %
n Superior límite aceptación	66	55	53
% Superior límite aceptación	14.73 %	12.28 %	11.83 %
n Inferior límite aceptación	38	64	63
% Inferior límite aceptación	8.48 %	14.28 %	14.06 %
$x + 2 d.s.$	3.11	1.75	1.60
$\bar{x} - 2 d.s.$	0	0.21	0.20
n Límite de aceptación	430	425	427
% Límite aceptación	95.98 %	94.87 %	95.36 %
n Superior límite aceptación	18	22	21

% Superior límite de aceptación	4.02	4.91	4.69 %
n Inferior límite de aceptación	0	1	0.0
% Inferior límite de aceptación	0	0.22	0.0 %

CORRELACIONES DE VALORES.

METODO DE FOLIN - NEWTON.

$\lambda =$	430/640 (A)	430/680 (B)	640/680 (C)
$F_e =$	1.0994052	1.1716708	1.0657315
$F_t =$	1 % - 1.17		
	5 % - 1.26		
$t_e =$	0.9214395	2.4571722	1.6070452
$t_f =$	1 % - 2.59		
	5 % - 1.97		

METODO DE BENEDICT

$\lambda =$	410/540	410/670	540/670
$F_e =$	5.182836	6.2737107	1.2104782
$F_t =$	1 % - 1.17		
	5 % - 1.26		
$t_e =$	8.4322436	10.396416	3.3770264
$t_f =$	1 % - 2.59		
	5 % - 1.97		

INTERPRÉTACION DE VALORES OBTENIDOS PARA FOLIN - NEWTON

$F_t =$	5 % = 126	1 % = 1.17
$F_e =$	A = 1.10 < 126	1.10 < 1.17

$$F_e = \quad B = 1.17 < 1.26 \quad 1.17 = 1.17$$

$$F_e = \quad C = 1.07 < 1.26 \quad 1.07 < 1.17$$

No Significativas.

No Significativas.

Encontramos que cualquiera de las longitudes de onda a la que se lean estos resultados a 5 %, siempre dará valores menores.

A 1 %, encontramos que la correlación entre las lecturas de 430 y 680 son iguales, por lo que los valores reales siempre serán iguales y por lo tanto más comparativos que entre las otras dos correlaciones, que dan valores menores.

$t_f =$		5 % = 1.97	1 % = 2.59
$t_e =$	A = 0.92	< 1.97	0.92 < 2.59
$t_e =$	B = 2.46	> 1.97	2.46 < 2.59
$t_e =$	C = 1.61	< 1.97	1.61 < 2.59

A y C no son significativas, B si es significativa para valores t_f a 5 %, y-- no son significativas en valor t_f a 1 %, por lo que en este caso el método si -- puede compararse cuando se leen los resultados a diferentes longitudes de onda y en términos generales.

INTERPRETACION DE VALORES OBTENIDOS PARA BENEDICT.

$$F_f = \quad 5 \% = 1.26 \quad 1 \% = 1.17$$

$$F_e = \quad A \quad 5.18 > 1.26 \quad 5.18 > 1.17$$

$$F_e = \begin{array}{l} B \quad 6.27 > 1.26 \quad 6.27 > 1.17 \\ C \quad 1.21 < 1.26 \quad 1.21 > 1.17 \end{array}$$

Encontramos que el valor no significativo único que se encuentra en la correlación a 5 % de la F_e/F_t en donde sí son comparables los resultados del método de Benedict leídos a 540 m μ y 670 m μ .

$$t_f = \begin{array}{l} 5\% = 1.97 \quad 1\% = 2.59 \\ A \quad 8.43 > 1.97 \quad 8.43 > 2.59 \\ B \quad 10.40 > 1.97 \quad 10.40 > 2.59 \\ C \quad 3.38 > 1.97 \quad 3.38 > 2.59 \end{array}$$

Significativa

Significativa

Como en todos los casos los valores de $F_e > F_t$, hay significación en los resultados, por lo que no se pueden tener comparaciones en los valores obtenidos en ambas técnicas.

Interpretación de resultados de la correlación de los métodos de

FOLIN - NEWTON / BENEDICT

$$F_e = \frac{0.880691}{0.1223076} = 7.2006236 \quad \begin{array}{l} 1.17 \\ 1.26 \end{array}$$

No pueden ser comparables los dos métodos

$$t_e = \frac{2.65 - 0.90}{\sqrt{0.0165^2 + 0.044^2}} = 37.24$$

No pueden ser comparables los dos métodos.

CAPITULO V

RESUMEN Y CONCLUSIONES

1o.- Se establecen dos métodos que se desarrollan en medio alcalino para formar azul de tungsteno, el método de Folin Newton emplea ácido fosfotúngstico.

2o.- Se practicaron espectrogramas en ambos métodos para determinar la mínima y la máxima absorbancia del color en ambos casos con solución tipo a determinada concentración (la misma para ambos).

3o.- Se hicieron lecturas de los problemas a las longitudes de onda mínima y máxima obtenidas en el espectrograma, además se leyó en la longitud de onda recomendada por el Autor.

4o.- Se hicieron las tablas de resultado y cálculos estadísticos establecidos en los Capítulos III y IV encontrando :

5o.- De la correlación del método de Folin Newton encontramos que los valores que dan las lecturas a la longitud de onda recomendada por el autor son ligeramente inferiores a las que teóricamente deben de obtenerse y que los resultados a la mayor o menor longitud de onda son los que dan, tanto al 5 % como al 1 % resultados más comparables.

6o.- El método de Folin Newton leído a $680\text{ m}\mu$ con el método de Benedict leído a $670\text{ m}\mu$ no puede compararse debido a que el método de Benedict siempre dará resultados inferiores al método de Folin Newton.

7o.- Los dos métodos son buenos, son reproducibles y dan resultados de acuerdo a la concentración de Acido Úrico Sérico pero nunca podrán compararse, pero sin embargo al hacer constar en el reporte de resultados los valores normales para el método seguido, esto ya no tiene importancia.

8o.- Se considera que el método de Benedict en términos generales da resultados inferiores al método de Folin Newton lo que hace pensar que la especificidad de este método sea mayor ya que en una muestra de sangre o suero pueden presentarse derivados púricos que aumenten los resultados por el método de Folin Newton.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Anderson, A. K. 1963, Essentials of Physiological Chemistry 4th, Ed. J.- Wiley & Sons. Inc. New York. 162, 277, 335.
- 2.- Benedict, S. R. 1922. The determination of uric acid in blood. J. Biol. - Chem. 51 : 187.
- 3.- Benedict, S. R. and Behre, J. 1931. Determination and Distribution of -- Uric Acid. J. Biol. Chem. 92 : 161.
- 4.- Brown, H. 1945. The determination of uric acid in blood. J. Biol. Chem. 158 : 601.
- 5.- Caraway, W. T. 1955. Determination of uric acid in serum by carbonate method. Am. J. Clin. Path. 25 : 840.
- 6.- Caraway, W. T. 1958. Chlorin in distilled water a source of Laboratory - error. Clin. Chem. 4 : 513.
- 7.- Caraway, W. T. 1957. Stabilized tungstic acid reagent for blood desproteinization. Chemistry Analyst. 47 : 44.
- 8.- Davidsohn, I. and Henry, J. B. 1972. Diagnóstico Clínico por el Laboratorio. 5th, Ed. Salvat Editores. Philladelphia. 85, 534.

- 9.- Denis, W. 1915. The determination of uric acid. J. Biol. Chem. 23 : -- 147.
- 10.- Faeron, W. R. J. 1944. Biochem. 38 : 399.
- 11.- Folin, O. 1930. The determination of uric acid. Biol. Chem. 86 : 179.
- 12.- Folin, O. 1933. The determination of uric acid. Biol. Chem. 101 : 111.
- 13.- Folin, O. 1934. The determination of uric acid. Biol. Chem. 106 : 311.
- 14.- Folin, O. and Denis, W. 1912. A New (colorimetric) Method for determination of uric acid in blood. J. Biol. Chem. 13 : 469.
- 15.- Hayashi, Y. 1969. Técnicas de Laboratorio Ilustradas. 1st, Ed. Igaku Shoin. Japón. 20.
- 16.- Hawrowitz, F. 1965. Biochemistry - An introductory Textbook. 1st, Ed. J. Wiley & Sons, Inc. New York. 172, 380, 397, 440, 445.
- 17.- Herbert, A. and Colton, R. 1969. Tables For Statisticians. 2nd Ed. Barnes & Noble Inc. 1.
- 18.- Laguna, J. 1968. Bioquímica. 2a. Ed. La Prensa Médica Mexicana. México, D. F. 171, 459, 334.
- 19.- Mahler, H. and Cordes, E. 1969. Biological Chemistry 2nd, Ed. Harper - International Edition. New York. 127, 132.
- 20.- Natelson, K. 1965. Acido Urico. S. M. (Métodos seleccionados en análisis clínicos). Clinical Chemistry. 1 : 178.
- 21.- Tietz, N. 1970. Fundamentals of Clinical Chemistry. 1th, Ed. W. B. Sanders Co. Philadelphia. 398, 753, 928.
- 22.- Varley, H. 1969. Practical Clinical Biochemistry. 4th, Ed. William Heinemann Medical Books Ltd. Gran Bretaña. 203.
- 23.- White, A. and Handler, P. 1964. Principles of Biochemistry. 3th. Ed. - Mc Grow Hill Co. New York. 165, 210, 567, 628, 725.
- 24.- White, W. and Frankel, S. 1965 Seiverd's Chemistry for Medical Technologist. 2nd. Ed. The C. V. Mosby Company. New York. 125, 131, 136.
- 25.- Yule, G. U. and Kendall, M. G. 1959. Introducción a la Estadística Matemática. 3a. Ed. Aguilar. Madrid. 31.