



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

DESARROLLO DE INDICADORES ACIDO- BASE EN MEDIO ACUOSO
A PARTIR DE EXTRACTOS ETANOLICOS DE ORIGEN NATURAL

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUÍMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A N:

LILIANA MARÍA LÓPEZ GONZÁLEZ
JUAN FRANCISCO MAGAÑA SOSA

DIRECTOR DE TESIS: I.Q. ENRIQUE GIL FLORES
ASESOR DE TESIS: Q.F.B. IDALIA L. FLORES GÓMEZ



MÉXICO, D.F.

2004



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.

DEDICATORIAS

A Dios:

"Gracias"

Por estar siempre conmigo.

Por tu bondad y misericordia.

Por los padres y hermanos que me diste.

Y Mil Gracias por permitirme vivir este momento, que te lo ofrezco como símbolo de mi amor.

A mi Padre:

Por tu inagotable paciencia.

Por ser mi Padre, esa persona que me ha enseñado a ser una mujer preparada, humilde y responsable. Te dedico este logro tuyo y mío que gracias a tu apoyo ahora es una hermosa realidad.

A mi Madre:

Por ser mi amiga y mi madre.

Por tu cariño, amor y cuidados.

Por tu apoyo incondicional en momentos difíciles.

Por estar conmigo en el momento preciso, cuando más te necesito.

Gracias por ser mi Madre.

A Sandra:

Por ser mi hermana y compartir a lo largo de nuestra vida alegrías y tristezas. Que bello poder compartir nuestros logros, que aunque haya tempestad nosotras seguiremos de pie con la frente en alto.

A José:

Por haber llegado a mi vida para darme alegría y amor con tus ocurrencias. Gracias por tu compañía en horas de estudio, te dedico a ti este momento que ojalá te sirva como motivo para esforzarte a ser mejor cada día.

A Juan Francisco:

Por tu cariño, comprensión y apoyo, ya que esta tesis que compartimos hoy, no hubiera sido posible realizarla si no nos hubiésemos conocido.

LILIANA MARÍA LÓPEZ GONZÁLEZ

A Dios:

*Por ser el amigo y guía
Por su apoyo espiritual
Por darme la capacidad y fortaleza que necesito.
Por todo lo que me ha dado.*

A mi Papá:

Por el apoyo brindado, sabios consejos, su infinita comprensión y amor así como el ejemplo que me ha representado en todos los aspectos de la vida.

A mi Mamá:

Por todo el amor y cariño que me ha brindado, por su paciencia y esperanza en mí para lograr este gran anhelo por su entusiasmo y motivación.

A Heidy, Adriana, Franco, Lupe, Gaby y Dany:

Por todos los bellos momentos que nos unen y porque al igual que yo algún día lleguen a vivir un momento como éste, y se esfuercen por ser siempre mejor.

A mi Abuelita Maura:

Por su apoyo incondicional, cariño, amor y comprensión.

A mis tíos Pancho, Polo, Angela, Nelva, Beto, Rosario y Carmen:

Quienes alientan mi formación académica y personal, gracias por su apoyo y consejos.

A Lilitana:

Por la comprensión, cariño y amor que hemos compartido en la vida, gracias por ser paciente conmigo y por apoyarme en los aspectos difíciles de la vida y sobre todo en este proyecto.

A Daniela y Lidia Arely:

Porque inspiran en mí la responsabilidad y alegran mi vida con su inocencia.

A la memoria de las personas que ya no están con nosotros en especial a mis Abuelos Roberto, Dolores y Francisco, mi tío Angel, así como Mario Velázquez Diego:

Que de algún modo son inspiración para seguir adelante y mejorar cada día.

A Juan, Miguel, Luis Antonio, Leonel y Adolfo:

Por compartir su amistad, y porque siempre me han apoyado y ayudado incondicionalmente en los momentos que he necesitado de ellos.

A todos mis familiares y amigos que de alguna manera me han ayudado y que gracias a su contribución se ha logrado este momento tan especial en mi vida.

A las Q.F.B. Leticia Huerta y Martha Ugalde:

Por las enseñanzas y la formación profesional que nos otorgaron.

JUAN FRANCISCO MAGAÑA SOSA

A Q. F. B. Idalia L. Flores Gómez:

Por brindarnos todo su apoyo, su experiencia y orientación para la realización de este trabajo así como las enseñanzas para nuestra formación profesional además de su amistad.

A I. Q. Enrique Gil Flores:

Por el apoyo incondicional brindado y la oportunidad de realizar este proyecto y que con paciencia nos otorgó la ayuda necesaria para concluir este gran logro.

A Q. F. B. Mauro Arrieta Sánchez:

Por sus valiosas aportaciones y ayuda desinteresada para la realización de este trabajo, pero sobre todo por sus enseñanzas y el tiempo que nunca fue negado para nosotros.

A los profesores que forman parte del jurado:

Que gracias a sus indicaciones nos permitieron acrecentar este proyecto.

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza:

Por todo el apoyo científico y tecnológico que nos ofreció, pero sobre todo por nuestra formación como Q.F.B.

Muy especialmente a la UNAM:

Por ser la forjadora de profesionistas de calidad y porque nos ha dado un gran tesoro, que es la educación.

LILIANA Y JUAN FRANCISCO

TABLA DE CONTENIDO

	Pag.
<i>INTRODUCCIÓN</i>	<i>iv</i>
<i>I. MARCO TEÓRICO</i>	1
A. Indicadores	1
B. Determinación del pKa de un Indicador	5
C. Volumetría Ácido – Base	9
D. Métodos De Extracción	18
E. Generalidades De Los Vegetales	20
F. Vegetales Seleccionados	30
<i>II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</i>	34
<i>III. OBJETIVOS</i>	35
<i>IV. HIPOTESIS</i>	36
<i>V. DISEÑO EXPERIMENTAL</i>	37
<i>VI. METODOLOGÍA GENERAL</i>	39
<i>A. DIAGRAMA DE FLUJO GENERAL</i>	41
<i>VII. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS</i>	45
A. Cebolla Morada	45
B. Col Morada	55
C. Zarzamora	65
<i>VIII. CONCLUSIONES</i>	
<i>IX. SUGERENCIAS</i>	76

<i>X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i>	77
<i>XI. ANEXO</i>	79
<i>XII. Valores de pH de cada punto de las curvas de pH versus volumen de las figuras 20 a la 39.</i>	83

INTRODUCCIÓN

Para la identificación del punto final en una titulación ácido-base es necesario la utilización de un indicador ácido-base el cual posee características de ácidos o bases orgánicos débiles cuya disociación reversible tiene la característica especial de que el color de la solución de la forma disociada es diferente al de la forma sin disociar.

Algunos vegetales poseen colorantes que al ser extraídos tienen características de un indicador ácido-base debido a que poseen sustancias que les proporcionan color como las llamadas antocianinas, dichas sustancias presentan propiedades ácido-básicas, lo que significa que el color característico de estas puede ser modificado por cambios en el pH, por lo tanto es posible el uso de estas sustancias como indicadores en valoraciones ácido-base.

Por lo anterior se desarrolló un sistema de extracción para algunos vegetales como: Betabel, Cebolla morada, Cereza, Ciruela, Col morada, Fitolaca, Flor de Jamaica, Fresa, Sandía, Uva Morada y Zarcamora. A las que posteriormente se realizaron pruebas en soluciones ácidas y soluciones básicas, registrando los colores obtenidos, así como su comportamiento en valoraciones ácido-base y la determinación espectrofotométrica de la constante de acidez pKa.

I. MARCO TEÓRICO

A. Indicadores

Muchas sustancias naturales y sintéticas presentan colores que dependen del pH de las soluciones en que están disueltas. Algunas de estas sustancias, utilizadas durante siglos para indicar la acidez o alcalinidad del agua, todavía se emplean como indicadores Ácido-Base.¹

Una lista de los compuestos que tienen propiedades de indicador Ácido-Base es muy larga y comprende una variedad de estructuras orgánicas. Ordinariamente se puede encontrar un indicador cubriendo cualquier intervalo de pH deseado.

Unos pocos de los indicadores más comunes se dan en la *tabla 1*.

Para determinar cuándo se alcanza el punto de equivalencia en una valoración directa Ácido-Base, el analista aprovecha el gran cambio de pH que ocurre en las titulaciones.²

Existen muchos ácidos y bases orgánicos débiles que presentan diferentes colores cuando están sin disociar y cuando están en forma iónica. Estas moléculas se pueden utilizar para determinar cuándo se ha adicionado la cantidad suficiente de titulante y se les denomina *indicadores visuales*.²

Estos son compuestos orgánicos de estructura compleja que cambian de color en solución a medida que cambia el pH. Los indicadores son ácidos o bases débiles. Debido a su intensa coloración, sólo se necesitan de 2 hasta 10 gotas de una solución diluida de un indicador para cualquier determinación, esta cantidad depende de cada indicador.³

1. Indicadores Ácido-Base

Un indicador ácido-base es un compuesto de peso molecular medianamente elevado, cuya forma no disociada tiene un color diferente al de su forma conjugada. En el agua o en otros disolventes se comportan como ácidos o bases débiles y de este modo participan en las reacciones de equilibrio en que interviene el ion hidrógeno. Las reacciones de disociación o asociación de estos compuestos son complicadas, reagrupaciones de estructura interna a las cuales deben sus cambios de color. Estas reagrupaciones son las responsables de las propiedades indicadoras de estos compuestos.

Un ejemplo sencillo es el *p*-nitrofenol, el cual es un ácido débil que se disocia como sigue:

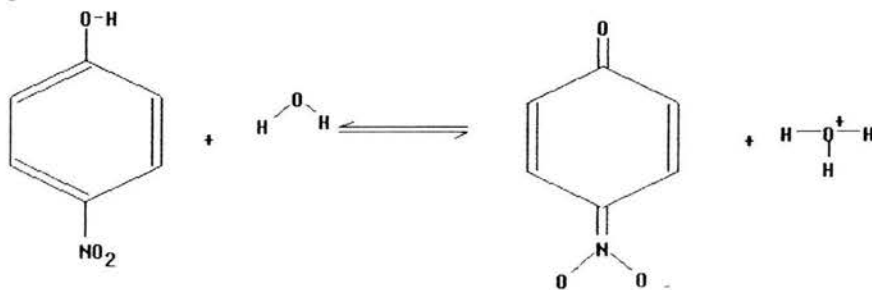
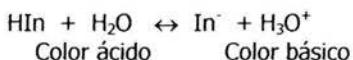


Figura 1. Equilibrio ácido Base de la molécula de *p*-nitrofenol.²

En forma no disociada es incoloro, pero el anión, que tiene un sistema de ligaduras simples y dobles alternadas (un sistema conjugado), es amarillo. Las moléculas o los iones que tienen tales sistemas conjugados absorben la luz a longitudes de onda más largas que las moléculas en donde no existen sistemas conjugados. La luz que se absorbe con frecuencia está en la porción visible del espectro, y por ello la molécula o ion se colorea.

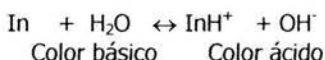
Si se discute la naturaleza de las reagrupaciones estructurales podemos simbolizar la reacción de asociación o disociación de un indicador Ácido-Base.

Por ejemplo, el siguiente equilibrio describe el comportamiento de un indicador de tipo ácido, HIn.



En este caso, la disociación se ve acompañada por cambios en la estructura interna del indicador y ocasiona un cambio de color. En este caso el indicador (el cual puede ser de constitución molecular o iónica) se comporta como un ácido débil que suministra al disociarse un anión, In⁻, y un ión hidrógeno.

El equilibrio para un indicador de tipo básico In, es:⁶



Para el segundo caso, el indicador actúa como una base débil capaz de combinarse con iones hidrógeno para formar el ácido conjugado de la base. En ambos casos, difieren en el color de las dos especies implicadas en estos equilibrios. La especie predominante, y por lo tanto el color, depende del pH. Así en el primer caso, HIn será el mayor constituyente en disoluciones fuertemente ácidas y será el responsable del "color ácido" del indicador, mientras que In⁻ representará su "color básico"; en el segundo caso predominará la especie IN en soluciones básicas y de este modo será responsable del "color básico" de este indicador, mientras que HIn constituirá el "color ácido".

La expresión de la constante de equilibrio para la disociación de un indicador de tipo ácido tiene la forma:

$$K_a = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{In}^-]}{[\text{HIn}]}$$

En forma logarítmica se convierte en ²

$$\text{pH} = \text{pK}_a - \log \frac{[\text{HIn}]}{[\text{In}^-]}$$

Como puede verse, la concentración del ion hidronio determina la relación del ácido y la base conjugada del indicador y, por tanto, determina el color que desarrolla la solución.

El ojo humano es poco sensible para apreciar diferencias de color en soluciones que contienen una mezcla de In^- y HIn , en particular cuando la relación $[\text{HIn}] / [\text{In}^-]$ es mayor que 10 ó menor que 0.1. En consecuencia, para el observador común el color que imparte a una solución un indicador típico parece cambiar rápidamente sólo dentro de las relaciones de concentración que están en los límites entre 10 y 0.1; a valores mayores o menores, para el ojo humano el color prácticamente es constante e independiente de esta relación. Se puede afirmar que el indicador promedio HIn exhibe su color ácido puro cuando

$$\frac{[\text{HIn}]}{[\text{In}^-]} \geq \frac{10}{1}$$

y su color básico cuando

$$\frac{[\text{HIn}]}{[\text{In}^-]} \geq \frac{1}{10}$$

El color parece ser intermedio para relaciones entre estos dos valores. Estas relaciones varían considerablemente de un indicador a otro. Además, las personas tienen distinta capacidad para diferenciar los colores, no así un daltónico, que es incapaz de distinguir un color entre otros.

Se puede calcular la concentración de ion hidronio necesaria para que ocurra un cambio en el color del indicador. Así para el color completamente ácido,

$$[\text{H}_3\text{O}^+] = 10 K_a$$

y de manera similar para el color completamente básico,

$$[\text{H}_3\text{O}^+] = 0.1 K_a$$

Para obtener el intervalo del indicador, se toman los logaritmos negativos de las dos expresiones:

$$\text{pH (color ácido)} = -\log(10 K_a) = \text{p}K_a + 1$$

$$\text{pH (color básico)} = -\log(0.1 K_a) = \text{p}K_a - 1$$

$$\text{intervalo de pH del indicador} = \text{p}K_a \pm 1$$

Por tanto, un indicador con una constante de disociación ácida de 1×10^{-5} ($\text{p}K_a = 5$) muestra un típico cambio total de color cuando el pH de la solución en la que está disuelto cambia de 4 a 6.

El intervalo de pH en el que un indicador exhibe un cambio de color depende de la temperatura, de la fuerza iónica del medio y de la presencia de disolventes orgánicos, y de partículas coloidales. Algunos de estos efectos, en particular los dos últimos, pueden ocasionar que el intervalo de viraje se desplace una o dos unidades de pH.¹

A continuación presentamos una tabla de indicadores comunes:

NOMBRE	VIRE(pH)	COLOR ACIDO	COLO BASICO	$pK_a^{H_2O}$	pK_a^{MeOH}	pK_a^{EtOH}	pK_a^{DMFA}	pK_a^{DMSO}
Violeta de Metilo	0.5 - 1.5	amarillo	azul	≈ 1				
Amarillo de Metilo	1.2 - 4.0	rojo	amarillo	3.3	3.3	3.1		
Azul de Bromofenol	3.0 - 4.6	amarillo	azul	3.8	8.9	9.5		
Naranja de Metilo	3.1 - 4.4	rojo	anaranjado	3.5	3.8	3.4		
Verde de Bromocresol	3.8 - 5.4	amarillo	azul	4.7	9.8	10.6	8.7	7.3
Rojo de Metilo	4.2 - 6.0	rojo	amarillo	5.0	9.0	10.5		
Rojo de Clorofenol	4.8 - 6.4	amarillo	rojo	6.0				
<i>p</i> -nitrofenol	5.6 - 7.6	incolora	amarillo	≈ 6.6				
Azul de Bromotimol	6.0 - 7.6	amarillo	azul	7.1				
Rojo Fenol	6.4 - 8.0	amarillo	rojo	7.8	12.8	13.5		13.7
Rojo Cresol	7.8 - 8.8	amarillo	rojo	8.1				
Azul de Timol	8.0 - 9.6	amarillo	azul	8.9				
fenoftaleína	8.0 - 9.8	incolore	rojo	9.3		15.3		16.3
Timoftaleina	9.3 - 10.5	incolore	azul	9.9				
Amarillo de Alizarina	10.0 - 12.0	amarillo	violeta	11.1				
Púrpura de <i>m</i> -cresol	1.2 - 1.8	rojo	amarillo	1.5				

DMSO = Dimetilsulfóxido DMFA = Dimetilfoarmamida EtOH = Etanol o Alcohol Etílico MeOH = Metanol o Alcohol Metílico

Tabla 1. Algunos Indicadores Ácido-Base importantes³

2. Errores debidos al indicador

Existen por lo menos dos fuentes de error al determinar el punto final de una titulación utilizando indicadores visuales. Uno de ellos ocurre cuando el indicador que se utiliza no cambia de color en el pH adecuado. Este es un error determinado que se puede corregir por medio de la determinación del *indicador en blanco*.

En el caso de los ácidos débiles (o bases débiles) ocurre un segundo error; aquí la pendiente de la curva de titulación no es grande y por lo tanto el cambio de color en el punto

final no es agudo. Aun cuando se utiliza el indicador adecuado, ocurre un error indeterminado que se refleja en la falta de precisión para decidir exactamente cuándo sucede el cambio de color. La utilización de un solvente no acuoso puede mejorar la agudeza del punto final en estos casos.²

B. Determinación del pKa de un Indicador

1. Generalidades de Espectroscopía

Los métodos espectroscópicos atómicos y moleculares figuran entre los métodos analíticos instrumentales más utilizados. La espectroscopia molecular basada en la radiación ultravioleta, visible e infrarroja sirve para identificar y determinar una enorme variedad de especies químicas orgánicas, inorgánicas y bioquímicas.

La Espectroscopía de absorción molecular en la región UV y visible tiene su principal aplicación en el análisis cuantitativo, y es uno de los métodos preferidos de laboratorios químicos y clínicos.

a. Espectros de Absorción

Todos los átomos y moléculas son capaces de absorber energía, de acuerdo con ciertas limitaciones, las cuales dependen de la estructura de la sustancia. La energía se puede proporcionar en forma de radiación electromagnética (luz). El tipo y cantidad de radiación absorbida por una molécula guarda relación con la estructura de la molécula; la cantidad de radiación absorbida está sujeta asimismo al número de moléculas que interaccionan con la radiación.

b. Longitud de Onda

Es la distancia lineal desde cualquier punto de la onda hasta el punto correspondiente de la onda adyacente. La dimensión de la longitud de onda corresponde a la de una longitud (L) ver figura 2.

Se expresa en centímetros (cm) o más, comúnmente en las siguientes unidades:⁴

1 Ångstrom (Å)	=	10^{-8} cm	=	10^{-10} m
1 nanómetro (nm)	=	10^{-7} cm	=	10^{-9} m
1 micrómetro (μ m)	=	10^{-4} cm	=	10^{-6} m

Tabla 2. Valores de equivalencia de las distintas unidades de medición de longitud.⁴



Figura 2. Representación gráfica de la Longitud de Onda.⁴

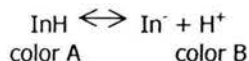
Región	Intervalo de longitud de onda
UV	180-380 nm
Visible	380-780 nm
IR cercano	0.48-2.5 μm
IR medio	2.5-50 μm

Tabla 3. Regiones del espectro Ultra Violeta / Visible e Infrarrojo.⁴

c. Determinación del pKa de un indicador mediante espectrofotometría

Las curvas de absorción de un indicador a diferentes valores de pH constituyen un método excelente para el estudio de los cambios de color que se producen en los indicadores Ácido-Base. Al representar para un indicador, como por ejemplo el azul de bromofenol, el espectro de absorción (absorbancia A frente a longitud de onda λ) a diferentes valores de pH en las proximidades del pK, se obtienen diferentes curvas con dos máximos cada una y que se cortan en un punto común denominado punto isobéptico, cuya existencia indica que se establece un equilibrio químico entre especies interconvertibles.

Un indicador es ordinariamente un ácido o una base débil que presenta diferente color dependiendo del estado de protonación. Así, para un indicador ácido hemos de considerar el equilibrio:



La constante aparente de equilibrio para la ionización del indicador viene dada por:

$$K = \frac{[\text{In}^-][\text{H}^+]}{[\text{InH}]}$$

y para situaciones en que se produce una ionización parcial del mismo siendo x la fracción de forma disociada y $1 - x$ la fracción de forma sin disociar:

$$K = \frac{x [\text{H}^+]}{1 - x}$$

Ecuación 1

A una determinada longitud de onda, preferentemente en las proximidades de un máximo, si A_1 es la absorbancia de la disolución en que sólo está presente la forma ácida del indicador y A_2 es la absorbancia de la disolución en que sólo está presente la forma básica del mismo, la absorbancia medida A vendrá dada por:

$$A = (1 - x) A_1 + x A_2$$

de donde:

$$x = \frac{A - A_1}{A_2 - A_1}$$

La ecuación (1), tras sustituir x , tomar logaritmos y reordenar queda como:

$$\log \frac{A - A_1}{A_2 - A_1} = \text{pH} - \text{pK}$$

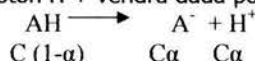
Al representar el primer miembro de esta expresión frente al pH , se obtiene una línea recta de cuya ordenada en el origen o corte en el eje de abscisas (la pendiente de la recta es 1) se determina el pK aparente del indicador.⁵

d. Determinación del pKa de un indicador por medidas de conductividad electrolítica

El objetivo es determinar el pK_a termodinámico de un ácido débil a partir de las medidas del grado de disociación de éste por conductimetría electrolítica.

1) Principios Teóricos

Si tenemos un ácido monoprótico (AH) a una concentración molar C , la ecuación de su disociación en el anión A^- y el protón H^+ vendrá dada por:



siendo α el grado de disociación de la molécula AH.

La constante termodinámica de equilibrio para el proceso en función de las actividades viene definida por:

$$K_a = \frac{a_{A^-} \cdot a_{H^+}}{a_{AH}} = \frac{[A^-][H^+]}{[AH]} \frac{\gamma_{A^-} \cdot \gamma_{H^+}}{\gamma_{AH}} = \frac{K_c \cdot \gamma_{\pm}^2}{\gamma_{AH}}$$

donde a_{A^-} , a_{H^+} y a_{AH} son las actividades de los iones A^- , H^+ y la molécula AH respectivamente; $[A^-]$, $[H^+]$ y $[AH]$ son las concentraciones molares y γ_{A^-} , γ_{H^+} , γ_{AH} y γ_{\pm} los coeficientes de actividad de H^+ , A^- , AH y el coeficiente de actividad iónico medio, respectivamente. K_c es la constante de equilibrio en función de las concentraciones molares, mientras que K_a es la auténtica constante termodinámica para el proceso. El coeficiente de actividad γ_{AH} se puede aproximar a la unidad cuando se trabaja con una concentración baja de AH, y que además se trata de un compuesto sin carga. Por tanto:

$$K_a = K_c \gamma_{\pm}^2$$

Por otro lado, la ley de Debye-Hückel permite obtener el coeficiente de actividad iónico medio según la expresión:

$$\log \gamma_{\pm} = -A |z_+ z_-| I^{1/2}$$

en donde z_+ y z_- son los valores de las cargas de los iones del electrolito para el que se calcula el coeficiente de actividad iónico medio, A es una constante, función del disolvente y de la temperatura e I la fuerza iónica del medio.

La fuerza iónica viene dada por la expresión:

$$I = \frac{1}{2} \sum_i C_i z_i^2$$

donde C_i representa la concentración de cualquier especie iónica de la disolución y z_i su carga eléctrica.

Se tiene que:

$$I = C\alpha$$

La ley de Arrhenius establece que, para los electrolitos débiles en disoluciones diluidas, el grado de disociación viene dado por:

$$\alpha = \frac{\Lambda}{\Lambda_0}$$

siendo Λ la conductividad equivalente de la disolución y Λ_0 la conductividad equivalente a dilución infinita. Λ está dada por la expresión:

$$\Lambda = 1000 \frac{\sigma}{C^*}$$

siendo σ la conductividad específica de la disolución (la magnitud experimental que se mide es con el conductímetro) a la concentración C^* del electrolito C^* está expresada en equivalentes por litro (eq/L), que para el caso de un ácido monoprótico es igual a la concentración molar C . Por tanto:

$$\Lambda = 1000 \frac{\sigma}{C}$$

Usando la ley de Arrhenius, la constante de equilibrio en función de las concentraciones molares puede expresarse como:

$$K_C = \frac{C\alpha^2}{1-\alpha} = \frac{C \left(\frac{\Lambda}{\Lambda_0} \right)^2}{1 - \frac{\Lambda}{\Lambda_0}}$$

con lo que se puede determinar para cada valor de C un valor de K_C tan sólo midiendo la conductividad específica ó .

Tomando logaritmos en la expresión de K_a (ecuación 2), tendremos:

$$\log K_a = \log K_C + 2 \log \gamma_{\pm}$$

o bien

$$\log K_C = \log K_a + 2 A (Ca)^{1/2}$$

luego, representando $\log K_C$ frente a $(Ca)^{1/2}$ podremos obtener el valor del pK_a .⁶

C. Volumetría Ácido - Base

1. Teorías Ácido - Base

Los ácidos y las bases desde el tiempo de los alquimistas han sido definidos de varias maneras, entre éstas existen algunos conceptos que pueden expresar de manera más exacta la descripción de ácidos y bases, de este modo algunos investigadores las definieron de la siguiente manera:

a. Ácidos y Bases de Arrhenius

En 1887, Svante Arrhenius postuló que, cuando las moléculas de electrolitos se disuelven en agua, se forman tanto iones positivos como negativos. Hacia finales del siglo XIX, las definiciones de ácidos y bases se expresaban en términos de la teoría de la ionización de Arrhenius.

Ácidos de Arrhenius	Bases de Arrhenius
Sustancias que se disuelven en agua para formar iones H ⁺	Sustancias que se disuelven en agua para formar iones OH ⁻

Tabla 4. Teoría Ácido- Base de Arrhenius²



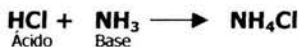
b. Ácidos y Bases de Brønsted Lowry

En 1923, J. N. Brønsted de Dinamarca y T. M. Lowry de Inglaterra sugirieron independientemente una nueva forma para describir los ácidos y las bases. De acuerdo con este sistema:

Ácidos de Brønsted Lowry	Bases de Brønsted Lowry
Son sustancias donadoras de protones	Son sustancias aceptoras de protones

Tabla 5. Teoría Ácido- Base de Brønsted Lowry²

Con esta definición se pueden correlacionar una gran variedad de reacciones y propiedades químicas, incluyendo las reacciones que se verifican en otros disolventes o sin disolvente.



c. Ácidos y Bases de Lewis

El químico estadounidense Gilbert N. Lewis expuso una nueva teoría de los ácidos y bases en la que no se requería la presencia de hidrógeno en el ácido. En ella se establece que:

Ácidos de Lewis	Bases de Lewis
Los ácidos son receptores de uno o varios pares de electrones	Las bases son donantes de uno o varios pares de electrones

Tabla 6. Teoría Ácido-Base de Lewis²

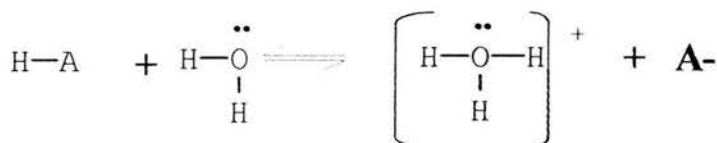
Esta teoría también tiene la ventaja de que es válida con disolventes distintos del agua y no se requieren los electrones de una sal o de pares de electrones de ácido-base conjugados. Es decir, el amoníaco se comporta como una base, pues es capaz de ceder un par de electrones al trifluoruro de boro para formar un par ácido-base:



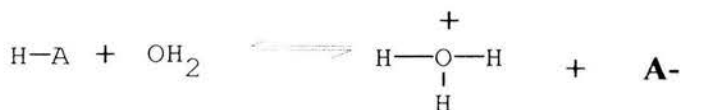
2. Soluciones Acuosas de Ácidos y Bases

a. Ácidos Monopróticos.

Considérese bajo el punto de vista de **Brønsted Lowry**, cuales son las especies donadoras y receptoras de protones en las soluciones acuosas de ácidos tales como HCl, HNO₃ y HC₂H₃O₂. Si usamos el símbolo HA para el donador de protones disuelto, A⁻ representa entonces al anión, por ejemplo Cl⁻, NO₃⁻ y C₂H₃O₂⁻. Por lo tanto, podemos escribir:



Los ácidos como el HCl, el HNO₃ y el HC₂H₃O₂, con moléculas capaces de donar un protón a una molécula de agua se llaman **ácido monopróticos**. Puesto que la donación de protones es una reacción reversible, *cualquier ácido debe formar una base al donar su protón*. Análogamente, *toda base debe formar un ácido al aceptar un protón*. Se dice que estas relaciones son conjugadas



Acido 1 Base 2

Acido 2

Base 1

← conjugadas →

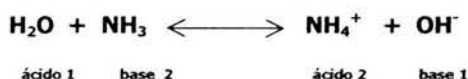
→ conjugadas ←

La base que resulta cuando un ácido dona su protón se llama **base conjugada** del ácido. Considerando que la reacción general anterior se verifica de izquierda a derecha, A^- es la base conjugada de HA; para la reacción inversa, H_2O es la base conjugada del H_3O^+ . El ácido que resulta cuando una base acepta un protón se llama **ácido conjugado** de la base. En la reacción general que se verifica de derecha a izquierda, H_3O^+ es el ácido conjugado del H_2O ; para la reacción inversa, HA es el ácido conjugado de A^- . Por consiguiente, H_3O^+ y H_2O , y HA y A^- , son pares *ácidos y base conjugados*.

b. Bases

Las propiedades comunes de las soluciones acuosas de bases se deben al ion oxhidrilo (OH^-), que es una base de *Brønsted Lowry*. Los hidróxidos iónicos de los elementos IA y IIA son bases fuertes. Puesto que los iones oxhidrilo ya existen en estos compuestos, la solución acuosa contiene los iones oxhidrilo característicos de las soluciones básicas. Las bases NaOH y KOH, que pueden suministrar 1 mol de iones oxhidrilo por mol de compuesto, se llaman **bases monoóxhidríticas**. Puesto que el $Ca(OH)_2$ y el $Ba(OH)_2$ contienen 2 moles de oxhidrilo por mol de compuesto, se clasifican como **bases dioóxhidríticas**.

Las moléculas covalentes que son base de *Brønsted Lowry* pueden producir iones oxhidrilo al ionizarse con el agua. El ejemplo más común es el amoníaco:



El agua actúa como un ácido en esta reacción de ionización, mientras que en las ionizaciones de ácidos, actúa como base. Por lo tanto, el agua es anfiprótica.⁷

c. Medida de la Fuerza de Ácidos o Bases

La fuerza de un ácido se puede medir por su grado de disociación al transferir un protón al agua, produciendo el ion hidronio, H_3O^+ . De igual modo, la fuerza de una base vendrá dada por su grado de aceptación de un protón del agua. Puede establecerse una escala apropiada de ácido-base según la cantidad de H_3O^+ formada en disoluciones acuosas de ácidos, o de la cantidad de OH^- en disoluciones acuosas de bases. En el primer caso tendremos una escala pH, y en el segundo una escala pOH. El valor de pH es igual al logaritmo negativo de la concentración de ion hidronio y el de pOH al de la concentración de ion hidroxilo en una disolución acuosa:

$$pH = -\log [H_3O^+]$$

$$pOH = -\log [OH^-]$$

El agua pura tiene un pH de 7.0; al añadirle ácido, la concentración de ion hidronio, $[H_3O^+]$ aumenta respecto a la del agua pura, y el pH baja de 7.0 según la fuerza del ácido. El pOH del agua pura también es de 7.0, y, en presencia de una base cae por debajo de 7.0.⁸

Fuerzas relativas de ácidos y Bases			
Acido	Base Conjugada		
HClO ₄	Ácidos Fuertes	ClO ₄ ⁻	Bases Débiles
HCl		Cl ⁻	
H ₂ SO ₄		HSO ₄ ⁻	
HNO ₃		NO ₃ ⁻	
H ₃ O ⁺		H ₂ O	
H ₂ SO ₃		HSO ₃ ⁻	
HSO ₄ ⁻		SO ₄ ²⁻	
H ₃ PO ₄		H ₂ PO ₄ ⁻	
HF		F ⁻	
HC ₂ H ₃ O ₂		C ₂ H ₃ O ₂ ⁻	
H ₂ CO ₃	HCO ₃ ⁻		
H ₂ S	HS ⁻		
HSO ₃ ⁻	SO ₃ ²⁻		
HCN	CN ⁻		
NH ₄ ⁺	NH ₃		
HCO ₃ ⁻	CO ₃ ²⁻		
HS ⁻	S ²⁻		
H ₂ O	OH ⁻		
NH ₃	NH ₂ ⁻	Bases Fuertes	
OH ⁻	O ₂ ⁻		

Tabla 7. Clasificación de los Ácidos y Bases.⁷

El principio Fundamental en el que se basa esta clasificación expresa que: *cuanto más fuerte sea el ácido, tanto más débil será su base conjugada.*⁷

3. Titulaciones

Una Titulación es un proceso en el cual una solución estándar se combina con una solución de concentración desconocida para determinar la concentración de esta.³

Los métodos por titulación comprenden un grupo grande y poderoso de procedimientos cuantitativos que se basan en la medición de la cantidad de un reactivo de concentración conocida que se consume por el analito.

Existen diferentes titulaciones:

a. Titulación Volumétrica

Se mide el volumen de una solución de concentración conocida que se necesita para reaccionar por completo con el analito.

b. Titulación Directa

En la titulación volumétrica de una sustancia en solución, contenida en un recipiente adecuado, se utiliza una solución previamente valorada determinando electroméricamente el punto final, por medio de un medidor potenciométrico, o visualmente si se usa un indicador interno.

La solución valorada se selecciona respecto a su normalidad, de tal manera que el volumen agregado, por medio de una bureta graduada, sea entre el 30 por ciento y el 100 por ciento de la capacidad nominal de la bureta. **Nota:** cuando se requiere menos de 10 mL de solución valorada, se deberá utilizar una microbureta. Cuando el punto final se aproxima, la solución volumétrica se agrega gota a gota hasta que la última adición corresponda al punto final. La cantidad de sustancia contenida en la solución muestra, se calcula de acuerdo con el volumen utilizado, tomando en cuenta la normalidad de la solución volumétrica y el factor de equivalencia de la sustancia.⁹

c. Titulaciones Residuales

En algunas titulaciones se requiere agregar un ligero exceso medido de la solución volumétrica, sobre el volumen calculado, necesario para reaccionar con la sustancia por valorar. El exceso se titula con una segunda solución volumétrica, lo que constituye propiamente la titulación residual, que es conocida también como retitulación. La cantidad de sustancia contenida en la solución muestra, se calcula tomando en cuenta: a) la diferencia entre el volumen de la solución volumétrica agregada previamente y el volumen de la segunda solución volumétrica, empleado en la retitulación; b) las normalidades de las dos soluciones volumétricas y c) el factor de equivalencia de la sustancia, dado en la monografía respectiva. En muchos análisis se especifica que es necesario efectuar una prueba en blanco, con los mismo reactivos, que se tratan en la misma forma que la muestra. En tales pruebas, al volumen de la solución volumétrica usado en la titulación, equivalente a la sustancia que ha sido valorada, se le substraen el volumen empleado en la titulación de la prueba en blanco, obteniendo así el utilizado en la titulación de la muestra. Con el volumen corregido así obtenido, se calcula la cantidad de la muestra, tomando en cuenta los valores antes mencionados, de la manera indicada.

d. Puntos de Equivalencia y Puntos Finales

Durante una titulación, el punto de equivalencia se alcanza cuando la cantidad de titulante añadido es químicamente equivalente a la cantidad de analito en la muestra. El punto de equivalencia en una titulación es un valor teórico que no se puede determinar experimentalmente. Sólo se puede estimar su posición observando algún cambio físico asociado a la condición de equivalencia. Este cambio se llama punto final de titulación.

En una titulación es muy común añadir un indicador a la solución del analito para obtener un cambio físico apreciable (el punto final) en o cerca del punto de equivalencia, los cambios de concentración son los que hacen que cambie la forma del indicador, siendo los más típicos la aparición o desaparición de un color, el cambio de color, o la aparición o desaparición de turbiedad.

Para detectar los puntos finales también se utilizan instrumentos que responden a los cambios de ciertas propiedades de la solución durante una titulación. Los instrumentos más utilizados para este fin son los colorímetros, instrumentos que miden temperatura, amperímetros y potenciómetros.¹

e. Corrección con el blanco de reactivos.

Como se mencionó anteriormente, el punto final determinado en un análisis volumétrico, es un estimado del punto de equivalencia de la reacción, ya que la validez de este estimado depende, de entre otros factores, de la naturaleza de los componentes de la solución por valorar y de la concentración de la solución titulante. De tal manera que para aumentar la confiabilidad de la determinación del punto final del análisis volumétrico, se hace necesario corregir con un blanco apropiado. Esta corrección es usualmente obtenida por medio de la titulación residual del blanco, donde el procedimiento requerido se repite con todo detalle a excepción de la sustancia por analizar que es omitida. En tales casos el volumen de la solución titulante equivalente a la sustancia analizada, es la diferencia entre el volumen consumido en la titulación residual del blanco y el consumido en la titulación de la sustancia de análisis. El volumen así obtenido se utiliza en el cálculo de la cantidad sustancia valorada, de la misma manera que como se indica en la parte correspondiente a valoraciones residuales. Cuando se hace la valoración por el método potenciométrico la corrección del blanco es normalmente insignificante.⁹

Titulación	Electrodo Indicador	Ecuación *	Electrodo de Referencia	Aplicaciones **
Acido-Base	Vidrio	$E = k + 0.0591 \text{ pH}$	Calomel o Plata-Cloruro de Plata	Titulación de ácidos y Bases

Tabla 8. Sistema de electrodos para titulaciones potenciométricas.⁹

* Forma adecuada de la ecuación de Nernst que describe el sistema indicado de electrodos: $k = \text{constante del electrodo de vidrio}$;

**La lista es representativa, pero no exhaustiva.⁹

4. Curvas de Titulación

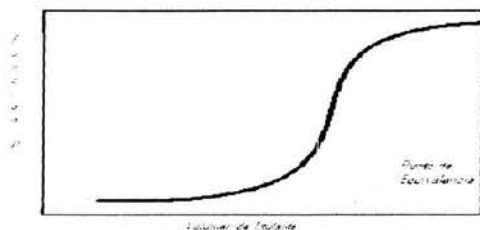
Se sabe que el punto final de una titulación es un cambio físico perceptible que sucede cerca del punto de equivalencia. Existen dos formas principalmente de detectar el punto final, los cuales consisten en:

- 1) Cambio de color debido al reactivo, al analito o al indicador.
- 2) Un cambio en el potencial de un electrodo que responde a la concentración del reactivo o del analito.

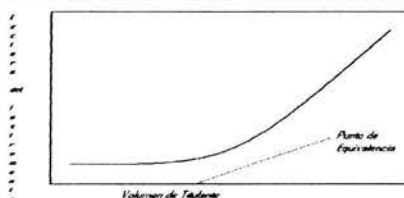
A fin de mejorar la detección de los puntos finales y averiguar las posibles fuentes de los errores de titulación, se construye una curva de titulación para el sistema.

5. Tipos de Curvas de Titulación

En los métodos volumétricos se utilizan dos tipos de curvas de titulación. En el primer tipo, llamado curva sigmoideal, esta curva consiste en una representación gráfica del volumen de reactivo en el eje horizontal y alguna función del analito o concentración del reactivo en el eje vertical las observaciones más importantes están confinadas a una pequeña zona alrededor del punto de equivalencia. Este tipo de curva se representa en la *figura 3*.

Figura 3. Curva Sigmoidal.¹

En el segundo tipo de curva, conocida como curva del segmento lineal, las mediciones se hacen a ambos lados de éste, pero lejos el punto de equivalencia donde se evita hacer mediciones. Este tipo de curva se representa en la *figura 4*, el eje vertical es una lectura del instrumento que es directamente proporcional a la concentración del analito o del reactivo.¹

Figura 4. Curva de Segmento Lineal.¹

6. Titulación de un Ácido fuerte con una Base fuerte

Para realizar una curva de titulación teórica de una solución de un ácido fuerte con una base fuerte se deben hacer tres tipos de cálculos. Cada uno corresponde a una etapa distinta de la titulación:

- 1) Antes del punto de equivalencia.
- 2) En el punto de equivalencia.
- 3) Después del punto de equivalencia.

En la etapa antes del punto de equivalencia se calcula la concentración del ácido a partir de su concentración inicial y la cantidad de base que se ha adicionado. En el punto de equivalencia, los iones hidronio e hidróxido están presentes en la misma concentración, y la concentración de los iones hidronio se calcula directamente de la constante del producto iónico del agua. En la etapa después del punto de equivalencia, se estima la concentración analítica del exceso de base y se supone que la concentración de ion hidróxido es igual o un múltiplo de la concentración analítica.

Una manera adecuada de convertir la concentración del ion hidróxido a pH puede ser tomando logaritmo negativo en ambos lados de la expresión de la constante del producto iónico del agua.

$$K_w = [\text{H}_3\text{O}^+][\text{OH}^-]$$

$$\log K_w = -\log [H_3O^+] [OH^-] = -\log [H_3O^+] - \log [OH^-]$$

$$pK_w = pH + pOH$$

$$-\log 10^{-14} = 14.00 = pH + pOH$$

7. Potenciometría

Los métodos potenciométricos de análisis se basan en las medidas del potencial de celdas electroquímicas en ausencia de corrientes apreciables. De origen reciente son los métodos en los que las concentraciones de los iones se obtienen directamente del potencial de un electrodo de membrana selectiva de iones. Tales electrodos están relativamente libres de interferencias y proporcionan un medio rápido y conveniente para estimaciones cuantitativas de numerosos aniones y cationes importantes.

1. Electrodo de Referencia

En la mayor parte de las aplicaciones electroanalíticas, es deseable que el potencial de semi-celda de uno de los electrodos sea conocido, constante, y completamente insensible a la composición de la disolución en estudio. Un electrodo que se ajusta a esta descripción se llama *electrodo de referencia*. Junto con el electrodo de referencia se emplea un *electrodo indicador* o *de trabajo*, cuya respuesta depende de la concentración del analito.

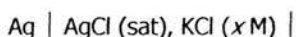
El electrodo de referencia ideal:

- 1) Es reversible y obedece a la ecuación de Nernst.
- 2) Presenta un potencial que es constante en el tiempo.
- 3) Retorna a su potencial original después de haber estado sometido a corrientes pequeñas.
- 4) Presenta poca histéresis con ciclos de temperatura.

Aunque ningún electrodo de referencia satisface completamente estos ideales, varios están asombrosamente cerca.

3. Electrodo de Plata / Cloruro de Plata

El electrodo de referencia más ampliamente comercializado consiste en un electrodo de plata sumergido en una disolución de cloruro de potasio saturada con cloruro de plata



El potencial está determinado por la semirreacción



Normalmente, este electrodo se prepara o bien con una disolución saturada de cloruro de potasio o con una 3.5 M. Los modelos comerciales de este electrodo son semejantes en

aparición externa y en forma a los electrodos de calomel. Sin embargo, en los electrodos de plata / cloruro de plata el tubo interno se reemplaza por un alambre de plata recubierto con una capa de cloruro de plata; este alambre está sumergido en una disolución de cloruro de potasio saturada con cloruro de plata.

Los electrodos de plata / cloruro de plata tiene la ventaja de que pueden utilizarse a temperaturas superiores a 60 °C, mientras que los electrodos de calomelanos no. Por otra parte, los iones mercurio (1) reaccionan con menos componentes de la muestra que los iones plata (que pueden, por ejemplo, reaccionar con las proteínas); tales reacciones pueden conducir a la obturación de la unión entre el electrodo y la disolución del analito.

2. Electrodo de Vidrio para Medidas de pH

Desde principios de los años treinta, la manera más adecuada de determinar el pH ha sido midiendo la diferencia de potencial a través de una membrana de vidrio que separa la disolución del analito de una disolución de referencia de acidez fija. La celda consiste en un electrodo indicador de vidrio y un electrodo de referencia de plata / cloruro de plata o de calomelano sumergidos en una disolución cuyo pH se va a determinar. El electrodo indicador consiste en una delgada membrana de vidrio sensible al pH sellada en el extremo de un tubo de vidrio de paredes gruesas o de plástico. El tubo contiene un pequeño volumen de ácido clorhídrico diluido saturado con cloruro de plata (la disolución interna en algunos electrodos es un tampón que contiene ion cloruro). En esta disolución un alambre de plata, forma un electrodo de referencia de plata / cloruro de plata, que se conecta a una de las terminales de un dispositivo para medir el potencial. El electrodo de referencia se conecta a la otra terminal.⁶

3. Aparato

Este aparato opera sobre el principio de equilibrio cero, proporcionando lecturas del tipo digital o de aguja de deflexión directa con escala amplia. La fuente de energía puede ser corriente directa o alterna. El aparato tendrá una perilla de ajuste, manual o automática, con el objeto de igualar las condiciones de temperatura del aparato con la de las soluciones de prueba. El aparato va a medir el potencial de la solución a través de los electrodos en milivolts y en unidades de pH.¹⁰

D. Métodos De Extracción

Los solutos en una solución tienen diferentes solubilidades en distintos disolventes y el proceso de selectividad removiendo un soluto de una mezcla con un disolvente es llamada extracción. El soluto a ser extraído puede estar en forma de sólido o en un medio líquido, y los disolventes usados para el proceso de extracción pueden ser agua, un disolvente miscible con el agua, u otro disolvente inmiscible con el agua. La selección del disolvente depende tanto del soluto como de los requerimientos del procedimiento experimental. Un método de extracción ideal debe ser rápido, simple y barato con buenos resultados, esto es, debe proporcionar la mayor cantidad de producto recuperado del analito en cuestión sin pérdida o degradación de éste; y debe también proporcionar una muestra que sea inmediatamente lista para usarse sin la concentración adicional o involucrar pasos de fraccionamiento.¹¹

1. Sistemas de Extracción con Disolventes

Los procedimientos de extracción basados en la distribución de los solutos entre solventes inmiscibles son llevados a cabo para dos propósitos:

Extracción exhaustiva que involucra la remoción cuantitativa de un soluto.

Extracción selectiva que involucra la separación de dos solutos.¹²

La extracción con disolvente es una técnica frecuentemente empleada en el laboratorio de química orgánica para separar o extraer especies deseadas de una mezcla de compuestos o de sus impurezas. Los métodos de extracción con disolventes son rápidamente adaptados al trabajo a microescala, de tal modo que pequeñas cantidades son manipuladas fácilmente en solución. Este método se basa en la solubilidad característica de la sustancia orgánica involucrada en relación con los solventes usados en particular en el proceso de separación.

Existen dos principales aplicaciones para el proceso de extracción:

- 1) la separación y el aislamiento de sustancias a partir de mezclas de sólidos, típicamente aquellos que se encuentran en la naturaleza y
- 2) el aislamiento selectivo de sustancias a partir de soluciones de mezclas que son obtenidas sintéticamente.¹³

2. Disolventes

Existen dos consideraciones primarias para la selección de un disolvente de extracción: la relativa extractibilidad de la sustancia de interés, y el grado de inmiscibilidad con el disolvente inicial. En muchas aplicaciones analíticas, la extracción es usada tanto como para separar el analito de potenciales interferencias y simultáneamente, convertirlo a una forma mejorada para mediciones espectrofotométricas. Para conseguir esto, varios reactivos pueden ser adicionados a la fase acuosa y el químico debe asegurarse que esos reactivos no son extraídos junto con el analito, o si lo son, estos no deben interferir en mediciones posteriores. La inmiscibilidad de los disolventes es importante en este caso. Los disolventes son rara vez totalmente inmiscibles; esto es, ellos exhiben una pequeña solubilidad entre uno y otro. Si, por ejemplo, el agua se disuelve ligeramente en una extracción con solvente orgánico, este

puede "llevar entre sí" varios solutos que podrían interferir en mediciones posteriores del analito.

Cuando hay una selección de disolventes para mejorar una extracción, el analista deberá considerar otros factores, tales como la gravedad específica, toxicidad, inflamabilidad y la tendencia para formar emulsiones. Las emulsiones son el resultado de una interconversión líquida inmiscible dispersada en una continua a otra. La estabilidad de la dispersión es de interés porque es necesario separar las fases para completar el proceso analítico. En general, separar emulsiones tan rápido como la viscosidad de la fase continua decrezca y la diferencia en la densidad de las dos fases aumente. Ocasionalmente, disolventes son mezclados para conseguir las características deseadas.¹⁴

3. Extracción Sólido - Líquido

Los principales tipos de extracción utilizados en química orgánica son los métodos sólido-líquido y líquido-líquido.

La forma más simple de extracción Sólido-Líquido es el tratamiento de un sólido con un disolvente dado en un vaso de precipitados o un matraz erlenmeyer seguido por la decantación o filtración del disolvente extraído de la muestra sólida. Esta técnica es la más útil cuando solo un componente es el principal en la fase sólida y que además tiene una apreciable solubilidad en el disolvente.¹¹

Cuando se trata de extraer algún analito a partir de muestras que contienen múltiples componentes, se utilizan técnicas en las que se considera antes que nada la solubilidad del compuesto de interés, o mezclas de disolventes en las que se logre extraer la mínima cantidad de compuestos indeseables, por otra parte es posible el uso de varias extracciones a partir de una solución madre, con diferentes porcentajes de disolventes elegidos.

Otra técnica de separación se basa de igual modo en la distintas afinidades por un disolvente tal como lo es la Cromatografía en Capa Fina, donde posteriormente las manchas obtenidas de los compuestos son recolectadas para una última purificación.

E. Generalidades De Los Vegetales

En los alimentos hay cuatro tipos fundamentales de colorantes:

Los carotenoides constituyen un grupo de pigmentos amarillos, rojos y naranjas distribuidos en casi todos los organismos vivos.

Aunque los carotenoides están presentes en casi todos los vegetales y en las hojas verdes de los árboles permanecen ocultos por la clorofila. Sólo en otoño, cuando disminuye la clorofila, aparecen los carotenos: amarillos, naranjas, rojos, dando la coloración típica de las hojas.

La clorofila forma parte de una clase de compuestos llamados *porfirinas*. Éstas están formadas por una estructura anillada combinada con un metal y una proteína.

Las antocianinas, producen los colores azules y rojos de cebolla morada, col morada, fresas, betabel, etc. Como los pigmentos del siguiente apartado. En particular las antocianinas cambian notablemente de color cuando varía el *pH*.¹⁵

Colorante	Color
Clorofila	Verde
Caroteno	Amarillos, Rojos y Naranjas
Antocianinas	Azules y Rojos

Tabla 9. Color que presentan cada uno de los pigmentos en los distintos vegetales.¹⁵

Casi todas las plantas forman pigmentos de antocianina y otros flavonoides en células especializadas en uno o más de sus órganos, proceso que es estimulado por la luz. Un ejemplo sencillo es el desarrollo más rápido del color rojo producto de la antocianina en manzanas ubicadas en el lado soleado de un árbol. La maduración de la pared del fruto va acompañada de cambios de coloración. Los frutos inmaduros tienen numerosos cloroplastos en las células más externas y son, por consiguiente, verdes. La desaparición de la clorofila y el desarrollo de pigmentos carotenoides determina el paso a coloraciones amarillas, anaranjadas o rojas. Pueden formarse también antocianos que dan al tejido una coloración roja, púrpura o azul. Estos pigmentos pueden distribuirse por todo el fruto, como en algunas cerezas, o quedan reducidos a las partes periféricas de la pared del fruto, como en la ciruela y en algunas uvas.¹⁶

1. Pigmentación De Los Vegetales

Los pigmentos vegetales se encuentran normalmente en los plastidios y en el jugo celular. El color verde se debe a la *clorofila*, que se encuentra en los cloroplastos. En los mismos plastidios se encuentran también *carotenoides*, pigmentos amarillos o anaranjados, que están enmascarados por la clorofila. Otro grupo de pigmentos son las *flavonas*, que son hidrosolubles y colorean el jugo celular. En algunos géneros vegetales, por ejemplo, en *Verbascum*, son las flavonas las responsables del color amarillo de los pétalos. Las **antocianinas**, son productos de la oxidación de las flavonas y son también hidrosolubles, coloreando el jugo celular de rojo púrpura, violeta o azul. Estos pigmentos dan color a las flores, frutos, hojas jóvenes, etc. El color de las **antocianinas** varía según sea el *pH* del jugo vegetal: dan color rojo en medio ácido y azules en medio básico. A veces el color percibido es el resultado de la presencia de unos cuantos pigmentos que se encuentran siempre en una

misma célula. Así, por ejemplo, cloro o cromoplastos pueden encontrarse junto con antocianinas.

La coloración de las hojas en el otoño es debida a varios procesos y a la combinación de distintos pigmentos. Con la muerte gradual de la hoja, la clorofila se descompone en sustancias incoloras y los carotenoides se hacen visibles, con lo cual la hoja aparece amarilla. Los colores rojo y púrpura son producidos por pigmentos que se encuentran en el jugo celular, es decir, productos provenientes de la oxidación de las flavonas. Estos colores adquieren un mayor brillo cuando los pigmentos se forman en presencia de azúcares y en hojas expuestas a luz intensa. Los colores otoñales, que resultan de la combinación de pequeñas cantidades de clorofila, carotenoides y mayores cantidades de **antocianinas** junto con taninos y varios pigmentos poco comunes, y el emparecimiento de las paredes celulares, se desarrollan mucho mejor en las zonas frío-templadas.

La producción de flavonoides requiere de azúcares como fuente del fosfoenolpiruvato y el 4-fosfato de eritrosa que proporcionan los átomos de carbono necesarios para formar el anillo B flavonoide y como fuente de las unidades acetato necesarias para el anillo A del flavonoide. Los azúcares, en especial la sacarosa, pueden originarse de la degradación del almidón o las grasas en los órganos de almacenamiento durante el desarrollo de la plántula o en la fotosíntesis que se lleva a cabo en células con clorofila. No es de sorprender, por consiguiente, que la síntesis de antocianina se incrementa por la luz que actúa fotosintéticamente en las hojas ó en la cáscara de manzanas verde; pero la luz promueve la síntesis de estos pigmentos en órganos que fotosintetizan un poco o incluso nada, incluyendo hojas de otoño, pétalos de flores y plántulas etioladas, lo que demuestra que por lo menos participa otro pigmento.¹⁵

2. Generalidades de los Flavonoides

Los flavonoides son compuestos de 15 carbonos que se encuentran en todo el reino vegetal. Son derivados del Fenilpropano con una composición básica de $C_6-C_3-C_6$. (ver *Figura 5*) la estructura madre para el grupo es una flavona, en el cual el carbono C_3 está ligado formando un anillo heterocíclico de pirona. En la Flavona el anillo heterocíclico es completamente reducido. Existen aproximadamente 12 grupos reconocidos de flavonoides que difieren de unos a otros únicamente por el estado de oxidación de este anillo heterocíclico. Se han identificado más de 2000 procedentes de vegetales. La estructura básica de los flavonoides, que se muestra enseguida, comúnmente se ve modificada de tal forma que se presentan aún más enlaces dobles, lo que hace que los compuestos absorban luz visible, dándoles color. Los dos anillos de carbono en los extremos izquierdo y derecho de la molécula se designan A y B, respectivamente.

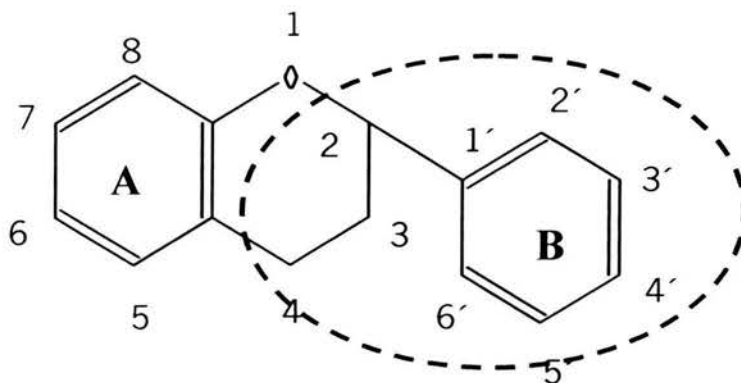


Figura 5. Estructura básica de los Flavonoides.¹⁵

La línea discontinua alrededor del anillo B y los tres carbonos del anillo central indica la parte de los flavonoides que se deriva de la ruta del ácido shiquímico. El anillo A y el oxígeno del anillo central se derivan por completo de unidades acetato proporcionadas por el acetyl-CoA. En los flavonoides casi siempre se presentan grupos hidroxilo, sobre todo unidos al anillo B en las posiciones 3' y 4', o en las posiciones 5 y 7 del anillo A, o en la posición 3 del anillo central. Estos grupos hidroxilo sirven como puntos de unión para varios azúcares que incrementan la solubilidad en agua de los flavonoides. La mayoría de los flavonoides se encuentran en la vacuola central, aunque se sintetizan fuera de ésta.

Dado que se han encontrado estos compuestos en las hojas, una posible función de estos es tal vez proporcionar protección del daño que pudiera provocar en los tejidos la radiación UltraVioleta.^{15,17}

La primera reacción de biosíntesis de flavonoides es la condensación de una molécula de cumaril - Co A con tres moléculas de malonil - Co A. La condensación implica la descarboxilación de las tres moléculas de malonil - Co A.

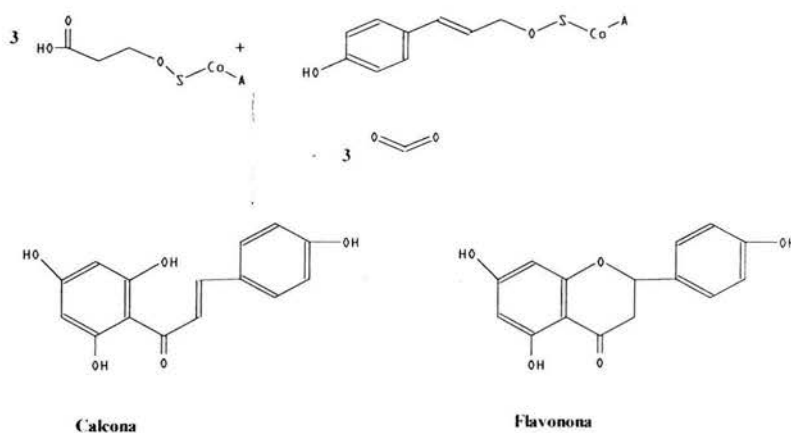


Figura 6. Equilibrio isomérico de una flavonona con una Calcona, producto de la reacción de catalización del complejo denominado calcona-flavonona sintetasa.¹⁸

Se ha demostrado además por medio de espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) que el desplazamiento del equilibrio hacia la flavonona viene determinado por la inclusión de un protón en el heterociclo.

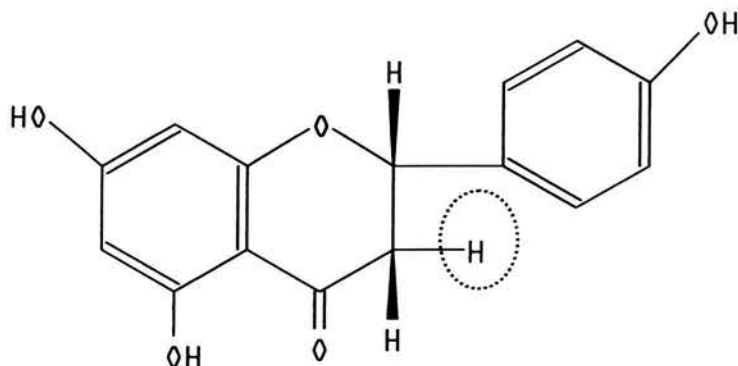


Figura 7. Flavonona con inclusión de un protón en el heterociclo, dicho protón se encuentra encerrado en un círculo discontinuo.¹⁸

La conversión de la flavonona en dihidroflavonol puede llevarse a cabo, bien por oxidación directa de la flavonona en el carbono 3 en el heterociclo

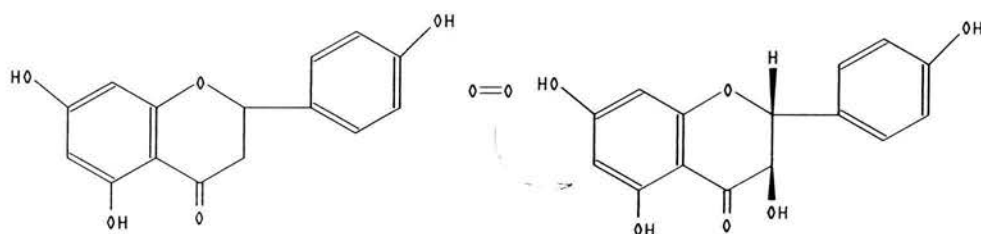


Figura 8. Oxidación de la flavonona en el carbono 3 heterociclo.¹⁸

O bien por formación de un intermediario epóxico

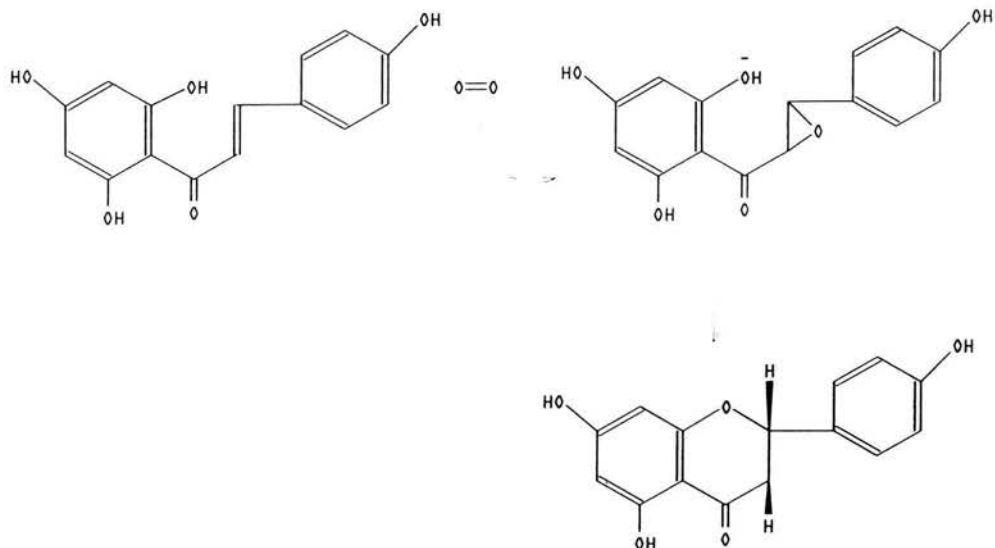


Figura 9. Conversión de flavonona en hidrofalconol a través de un intermediario epóxico.¹⁸

El dihidrofalconol así formado es el inmediato precursor de flavonoles y antocianinas. Una deshidrogenación del dihidrofalconol a flavonol es fácil de realizar, ya que los hidrógenos en los carbonos 2 y3 están en posición *trans*.

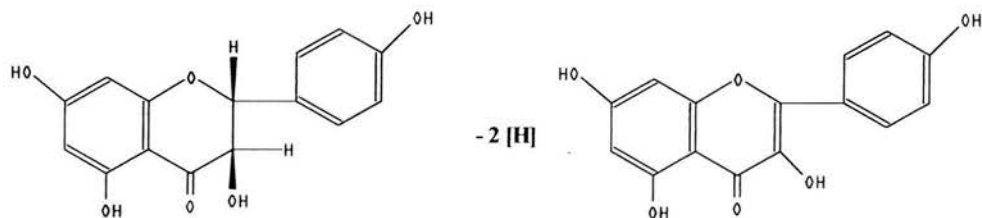


Figura 10. Deshidrogenación del dihidrofalconol en los carbonos 2 y3 para formar flavonol.¹⁸

La síntesis de antocianinas, por el contrario, implica una deshidratación,

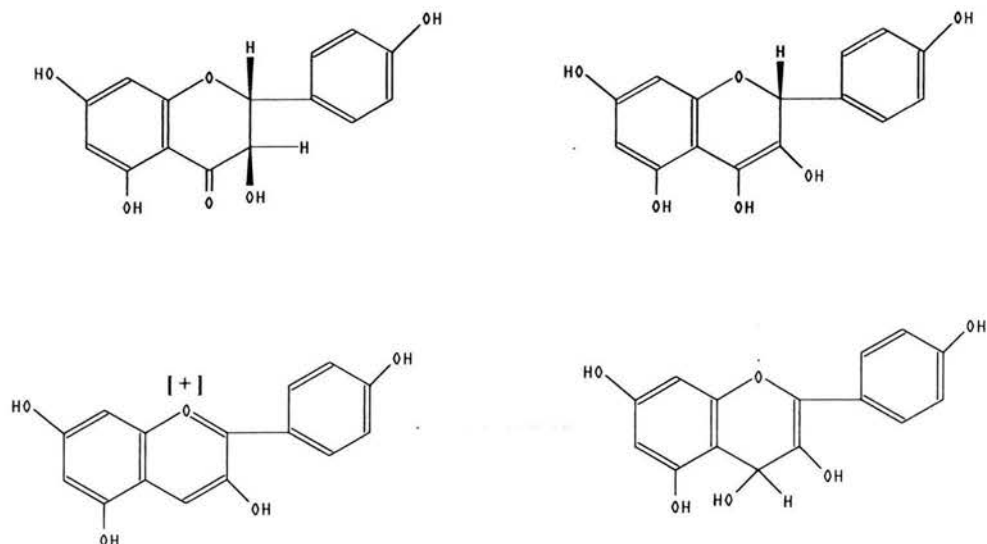


Figura 11. Síntesis de antocianinas por deshidratación del dihidroflavonol.¹⁸

Los flavonoides son posteriormente metilados por acción de metiltransferasas altamente específicas. Estas enzimas utilizan S – adenosilmetionina como donador de grupos metilo en una reacción dependiente de Mg^{+2} , liberando S – adenosilhomocisteína. Normalmente la metilación ha sido descrita para el glicósido constituido.

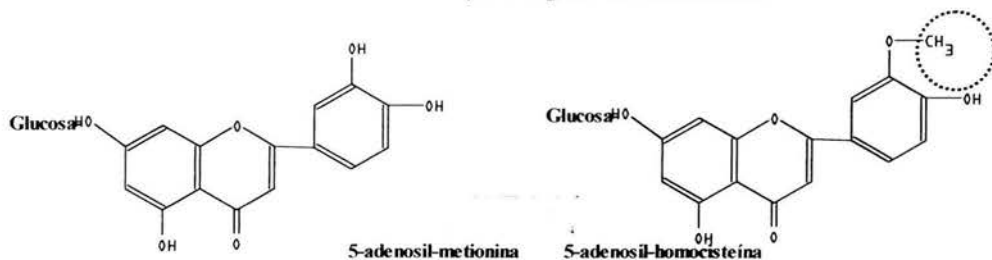


Figura 12. Metilación enzimática por metiltransferasa en la posición del carbono 3' señalada en el círculo en línea discontinua.¹⁸

3. Características De Las Antocianinas

Tres grupos de flavonoides son de particular interés en fisiología vegetal. Son las **antocianinas**, los flavonoles y las flavonas. Las **antocianinas** (del griego *antos*, flor, y *ciano*, azul oscuro) son pigmentos coloreados que proveen intensos colores ciánicos desde el rosa hasta el azul que por lo común se encuentran en tejidos de flores rojas, azules y púrpuras. También se presentan en muchas otras partes de la planta, como en ciertos frutos, tallos, hojas e incluso raíces. Con frecuencia, los flavonoides se encuentran confinados a células epidérmicas. La mayoría de los frutos y muchas flores deben sus colores a las antocianinas, aunque algunos, como varias flores amarillas y los frutos del tomate, son coloreados por carotenoides. Los colores brillantes de las hojas en el otoño se deben en gran

parte a la acumulación de antocianinas en días fríos y brillantes, sin bien son carotenoides (amarillos o anaranjados) los pigmentos que predominan en las hojas otoñales de algunas especies.

Al parecer las antocianinas suelen estar ausentes de hepáticas, algas y otras plantas inferiores, aunque en musgos se presentan algunas antocianinas y otros flavonoides. Solo en raras ocasiones se ha podido demostrar su existencia en gimnospermas, si bien éstas contienen otros tipos de flavonoides. En las plantas superiores existen varios tipos de ellas, y con frecuencia hay más de uno en una flor (u otro órgano) en particular. Las **antocianinas** son inestables a la luz y son insolubles en agua así que generalmente no se les encuentra en estado libre. En vez de ello estas se hallan en la vacuola ligadas a azúcares, los cuales les proveen estabilidad y solubilidad en agua. Estos glicósidos son llamados **antocianinas** de tal modo que el número de Antocianidinas se reduce a tan solo diecinueve estructuras. A la vez, la variación glicosídica conocida entre esos pigmentos fue restringida a cuatro tipos principales: 3- monoglicósidos, 3- diglicósidos, 3,5-diglicósidos, y 3-diglicósido-5-monoglicósido.

Estos glicósidos, por lo común con una o dos unidades de glucosa o galactosa, aunque también se encuentran xilosa y ramnosa unidas al grupo hidroxilo localizado en la posición 5 del anillo A, como se describe en la figura 13:

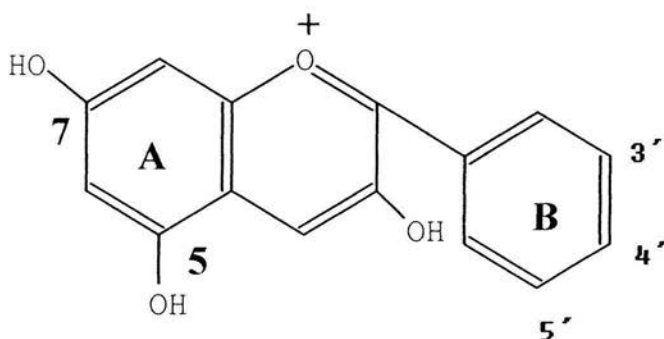


Figura 13. El anillo básico de antocianina, mostrando variaciones en el anillo B debidas a hidroxilación y metilación para formar diversas antocianinas.¹⁵

4. Estructura básica de la antocianidina (ion flavinio)

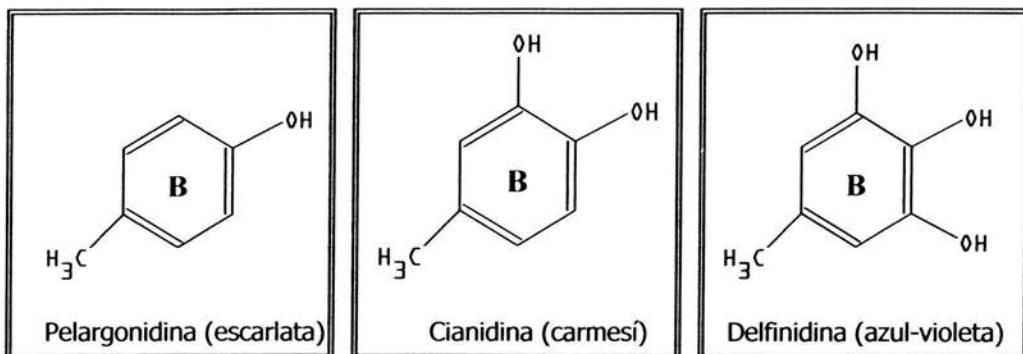
Posición Azúcar Unido a:

3 esta posición siempre está glicosilada, por lo común con glucosa, galactosa, ramnosa, xilosa-glucosa, ramnosa-glucosa o glucosa-glucosa

5 a veces glicosilada; en caso de estarlo, con glucosa

7 casi nunca está glicosilada; de estarlo, con glucosa

a. Antocianidinas Hidroxiladas



b. Antocianidinas metiladas

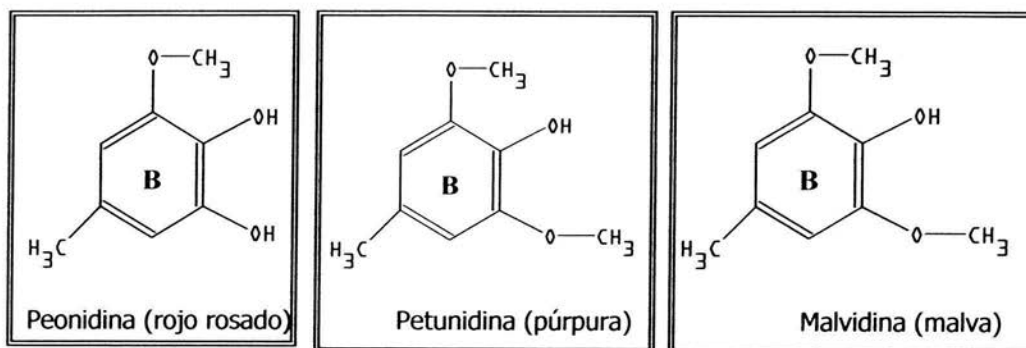


Figura 14. Las antocianinas se producen por la unión de azúcares (glicosilación) a la posición 3-hidroxilo de la antocianidina, y en ocasiones también a la posición 5 o 7.¹⁵

Cuando se eliminan los azúcares, las partes restantes de las moléculas, las cuales aún están coloreadas, se conocen como **Antocianidinas**.

Los antocianidoles, generalmente, se describen con una carga positiva localizada sobre el átomo de oxígeno intracíclico del núcleo piránico. Esta anotación <<oxonio>> es únicamente un convenio de escritura, ya que en realidad, la carga se encuentra deslocalizada en la estructura completa.¹⁵

Investigaciones más recientes han demostrado estructuras mucho más complejas. Hay muchas **antocianinas** con sustituyentes acilo ligadas a azúcares: ácidos alifáticos, tales como malónico, succínico, málico y acético, ácidos aromáticos tales como el gálico, p-cumárico, ferúlico y cafeico, y pigmentos con ambos tipos de sustituyentes, alifáticos y aromáticos.

Una complejidad adicional en algunas **antocianinas** es la presencia de varios azúcares acilados en la estructura. Estas **antocianinas** tienen a veces una designación como

poliglicosiladas. Un ejemplo típico es la **antocianina** azul celeste, una peonidina derivada con seis residuos de glucosa y tres de cafeila como sustituyentes en las posiciones 3 y 5.

El color de las **antocianinas** depende en primer lugar de los grupos sustituyentes que se presenten en el anillo B. Cuando se hallan grupos metilo, como en la peonidina, provocan un efecto de enrojecimiento. En segundo lugar, con frecuencia las antocianinas se asocian con flavonas o flavonoles, los cuales hacen que se vuelvan más azules. En tercer lugar, se asocian entre sí, en especial a concentraciones elevadas, lo que causa un efecto de enrojecimiento o azulado, dependiendo de la antocianina y del pH de las vacuolas en donde se acumulan. La mayoría de las antocianinas son rojas en soluciones ácidas pero se tornan púrpuras y azules cuando aumenta el pH.¹⁹

Desde su descubrimiento, se han considerado varias posibles funciones de las antocianinas. Una de sus funciones útiles en las flores es la atracción de aves y abejas que llevan polen de una planta a otra, con lo que ayudan a la polinización. Además de su función biológica y el interés terapéutico ligado a su actividad sobre la permeabilidad y la resistencia de los capilares, constituyen colorantes atóxicos, utilizables en la industria del medicamento y, más generalmente, en la industria alimentaria.²⁰

Químicamente las **antocianinas** son altamente oxidables al catión Flavilium, ejemplificado por la estructura de la antocianidina, la pelargonidina:

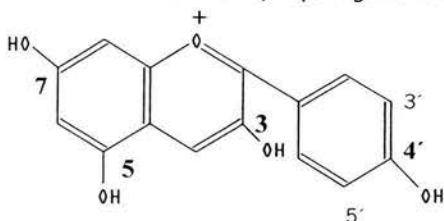


Figura 15. Estructura de la Pelargonidina oxidada al catión Flavilium.¹⁹

Este pigmento es encontrado en flores naranjas, escarlatas y naranjas, mientras que la cianidina (con un grupo hidroxilo extra en la posición 3') es responsable de la mayoría de los colores de las flores que van desde el color rojo hasta el magenta. El tercer pigmento más común es la delfinidina (con dos grupos hidroxilo extra en las posiciones 3' y 5').¹⁹

5. Propiedades Físico-Químicas de las Antocianinas

Estas además de ser solubles en agua también lo son en alcoholes, insolubles en disolventes orgánicos no polares. Se extraen con alcohol, en medio ligeramente ácido. Las geninas, poco solubles en agua, se aíslan en forma de sales; son muy inestables en solución, sobre todo en medio alcalino.

La relativa inestabilidad del catión flavilio en solución, es el elemento fundamental del comportamiento de estas sustancias. La inestabilidad de las soluciones, se manifiesta por los cambios de coloración de las mismas, en función del pH. Estos cambios son debidos a la formación de un carbinol, por ataque nucleófilo del agua, sobre el ión flavilio; un aumento del

pH conduce, seguidamente, a una chalcona. Si el hidroxilo en 3 está libre, la degradación prosigue irreversiblemente.

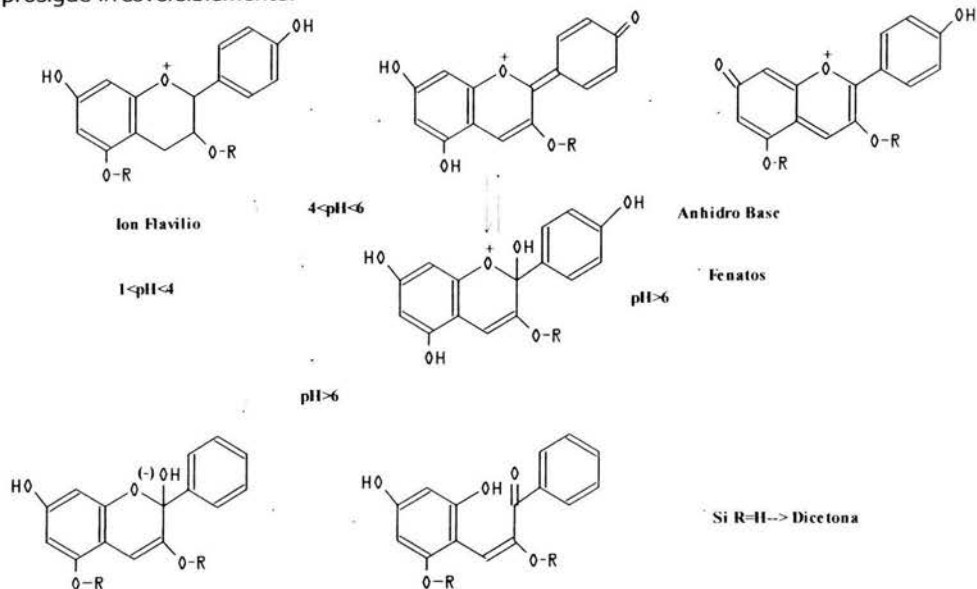


Figura 16. Estabilidad del catión Flavilio en función del pH y los productos formados de esta degradación.²⁰

En el vegetal, los antocianósidos se acumulan en las vacuolas y el pH del medio puede determinar la coloración de los tejidos: en medio muy ácido, predomina el ión flavilio (rojo), cerca de la neutralidad la que predomina es la anhidrobase (azul). En muchos casos debido al pH existente, el carbinol incoloro es el mayoritario, lo que implica que las coloraciones observadas, están ligadas a una copigmentación anhidrobase-flavonoides o a un complejo con los metales.

Entre las demás propiedades de los pigmentos antociánicos, se puede señalar que, sus soluciones se decoloran por los bisulfitos alcalinos y que se oxidan por los peróxidos, lo que limita su empleo como colorante.

Generalmente la extracción se realiza con alcohol acidificado; el ácido puede ser clorhídrico o, para evitar la destrucción de los acil-antocianósidos, un ácido orgánico como el tartárico. Para la separación se recurre a las técnicas cromatográficas con resinas cambiadoras de iones, poliamida o polivinilpirrolidona, así como la filtración, molecular sobre gel.

El análisis de mezclas de pigmentos antociánicos, necesita un estudio en Cromatografía en Capa Delgada (CCD); la utilización de fases inversas en Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR), permite un estudio preciso y rápido de los perfiles antociánicos de los vegetales. Igual que ocurre en los flavonoides, los espectros Ultravioleta (UV) de estas moléculas son muy característicos absorben fuertemente de entre los 475 nm a 560 nm mientras que transmiten tanto luz azul como la roja. y dependen estrechamente de la naturaleza y de la posición de los sustituyentes.

F. VEGETALES SELECCIONADOS

Los vegetales seleccionados como objeto de estudio para este proyecto mediante un criterio de selección basado a los fines y objetivos de esta tesis fueron:

1. Cebolla Morada
2. Col Morada
3. Zorzamora

Estos vegetales presentaron un cambio de color perceptible en cada una de las soluciones empleadas, a diferencia de los demás vegetales usados, los cuales presentaban un color muy pálido, e incluso imperceptible en las soluciones de más baja concentración (0.05 N), cabe aclarar que la Cereza (*Prunus cerasus*) presentó cambios de coloración muy perceptibles y cumplía con los requerimientos para ser empleada en la investigación, sin embargo, para la fabricación de un nuevo lote de extracto no se logró encontrar el vegetal fresco, ya que la temporada de cosecha de este había terminado para entonces y desafortunadamente no se pudo seguir investigando con este fruto.

1. Cebolla Morada

Nombre Común: *Cebolla morada* (ver figura 17)

Nombre Científico: *Allium cepa*

Género: *Allium*²¹



Figura 17. Ilustración de la Cebolla Morada²¹

REGIÓN DE CULTIVO	Nativo de Asia pero cultivado en regiones templadas y subtropicales.
DESCRIPCIÓN	Planta bulbosa con hojas cilíndricas largas, huecas y engrosadas en la base que constituyen parte del bulbo. Las flores son blancas o rosadas. Los frutos son pequeñas cápsulas llenas de semillas.
USOS	Se consume cruda en ensalada, cocinada.
PROPIEDADES FARMACOLOGICAS	En medicina, es diurética, y muy rica en vitamina C. Evita la caída del cabello y la infección de heridas pequeñas. También evita el estreñimiento.
OBTENCIÓN	Se obtienen con facilidad a partir de semillas, que se siembran directamente en el terreno.

Tabla 10. Generalidades de la Cebolla Morada²¹

2. Col Morada

Nombre Común: *Col morada* (ver figura 18)

Nombre Científico: *Brassica oleracea*

Género: *Brassica*²¹



Figura 18. Ilustración de Col Morada⁸

REGIÓN DE CULTIVO	Muy cultivada en las regiones templadas
DESCRIPCIÓN	Su color morado se debe a unos pigmentos, las antocianinas, presentes en el jugo vacuolar de sus hojas. La col tiene un tallo leñoso que soporta hojas grandes, carnosas. Las flores son amarillas. El fruto es una vaina larga terminada en pico.
USOS	Como alimento y como forraje.
PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS	No reportada.
OBTENCIÓN	Originaria de los acantilados marinos de España, Francia, Italia y Gran Bretaña

Tabla 11. Generalidades de la Col Morada²¹

3. Zarzamora

Nombre Común: *Zarzamora* (ver figura 19)

Nombre Científico: *Rubus fruticosus*

Género: *Rubus*²¹



Figura 19. Ilustración de Zarzamora⁸

REGIÓN DE CULTIVO	Originaria de Europa. En suelos húmedos.
DESCRIPCIÓN	El fruto maduro, llamado mora, es un agregado de pequeñas frutos carnosos de color púrpura oscuro unidas a un receptáculo cónico que se separa fácilmente de la planta.
USOS	Empleado en Cocina.
PROPIEDADES FARMACOLOGICAS	Vitamina C, astringente, tónica y diurética.
OBTENCIÓN	Lugares silvestres introducida cerca de lugares habitados, a menudo como planta trepadora.

Tabla 12. Generalidades de la Zarzamora²¹

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Sabemos que ciertos vegetales son útiles en el tratamiento de ciertas enfermedades o empleados en el arte culinario, pero no es suficiente decir que sabemos que son activas o que confieren un aroma y sabor agradables a la comida. La razón de sus diversos efectos se halla en que contienen ciertas sustancias químicas activas, y son estos compuestos los que le proveen los diversos efectos.

En el transcurso del estudio de la química analítica se han realizado mediciones y métodos de análisis de aplicación para todos los campos científicos; una rama de esta ciencia es el análisis volumétrico que introduce el método de la titulación, el cual comprende un grupo grande y poderoso de procedimientos cuantitativos que se basan en la medición de la cantidad de un reactivo de concentración conocida que se consume por el analito, por otro lado en la química analítica también se han desarrollado técnicas de análisis de compuestos de todos tipos, desde su extracción y obtención hasta su análisis y cuantificación que están presentes en la naturaleza, como por ejemplo en los vegetales.

En una titulación ácido-base es necesario añadir un indicador a la solución del analito para obtener un cambio físicoquímico apreciable en el punto final de esta. En los laboratorios analíticos es frecuente la utilización de indicadores sintéticos comerciales que son los únicos en el mercado, pensando en esto se ha observado que existen algunos vegetales que contienen antocianinas las cuales proporcionan diversos colores a diferentes pH's, esta propiedad ácido-base nos ofrece la utilización de estas sustancias del vegetal como indicadores alternativos en valoraciones ácido-base en medio acuoso.

Siendo la extracción una técnica de obtención de las antocianinas, se desarrollará un sistema de extracción idóneo, así como la determinación de los cambios de color, intervalos de vire, y de pK_a para estos extractos como indicadores naturales ácido-base en medio acuoso obtenidos de algunos vegetales como: betabel, cebolla morada, cereza, ciruela, col morada, fitolaca, flor de jamaica, fresa, sandía, uva morada y zarzamora, cada uno de estos por la coloración que presentan tanto interna como externamente.

Una vez que se ha logrado desarrollar un sistema de extracción eficaz para obtener antocianinas de los frutos seleccionados se buscará implementar el uso de estos indicadores como alternativa en su uso en los laboratorios de docencia en esta facultad, e incluso posteriormente, en laboratorios ajenos a esta facultad en donde se requiera el uso de indicadores para detectar el punto de equivalencia, tanto para bases fuertes como lo es el Hidróxido de Sodio como para Ácidos Fuertes como el Clorhídrico.

Además de lo anterior es posible aplicar los resultados de esta investigación para la enseñanza temprana de la química básica como lo son los ácidos y las bases en los niveles básicos y medio superior, esto a consecuencia de la facilidad con la que es posible encontrar prácticamente en cualquier mercado o tienda de autoservicio los vegetales que son objeto de este trabajo científico, esto a diferencia de lo que conllevaría a la compra de un producto especializado como lo son los indicadores ácido-base comercialmente disponibles.

III. OBJETIVOS

A. Objetivo General

- ❖ Desarrollar extractos Etanólicos de origen natural para ser utilizados como Indicadores alternativos en medio acuoso para valoraciones directas Ácido-Base.

B. Objetivos Particulares

- ❖ Determinar el sistema de extracción más apropiado para la obtención de indicadores ácido-base a partir de vegetales.
- ❖ Determinar las condiciones de almacenaje óptimas para el uso de los extractos obtenidos que serán usados como indicadores ácido-base.
- ❖ Determinar los intervalos de vire de pH para cada uno de los extractos usados como indicadores Ácido-Base.
- ❖ Determinar los colores de vire que presenten los extractos usados como indicadores en las valoraciones Ácido-Base en medio acuoso.
- ❖ Determinar el pKa o constante de acidez de los extractos etanólicos utilizados como indicadores Ácido-Base en medio acuoso por un método espectrofotométrico.
- ❖ Determinar la funcionalidad de los Extractos usados como indicadores Ácido-Base como una alternativa de uso de los indicadores comercialmente conocidos, dentro y fuera de los laboratorios de la Planta Piloto Farmacéutica de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

IV. HIPOTESIS

Se sabe que las antocianinas son compuestos que se encuentran en las plantas y que presentan distintas coloraciones que están en función del pH del medio en el que se encuentran, por lo tanto éstos compuestos poseen características ácidas y básicas que pueden ser aprovechadas al ser extraídas de distintos vegetales como indicadores del punto final en valoraciones ácido-base en medio acuoso.

V. DISEÑO EXPERIMENTAL

A. Material

MATERIAL	MARCA
Vasos de precipitados de 100 mL	<i>Kimax</i>
Vasos de precipitados de 250 mL	<i>Kimax</i>
Matraz aforado de 1000 mL	<i>Pyrex</i>
Matraz aforado de 25 mL	<i>Pyrex</i>
Matraz aforado de 100 mL	<i>Kimax</i>
Matraz aforado de 250 mL	<i>Kimax</i>
Soporte Universal	<i>No Disponible</i>
Pinza doble para bureta	<i>Felisa S.A.</i>
Bureta de 25 mL	<i>Kimax</i>
Probeta de 100 mL	<i>Pyrex</i>
Barra magnética de 1 cm	-----
Pizeta	-----
Matraces erlenmeyer de 50 mL	<i>Kimax</i>
Mortero con pistilo	-----
Embudo de vidrio tallo corto	<i>Pyrex</i>
Anillo metálico	-----
Fascos de vidrio ámbar con tapa de baquelita con capacidad de 200 mL	-----
Fascos de vidrio ámbar con tapa gotero de polietileno con capacidad de 20 mL	-----
Desecador	<i>Nalgene</i>
Pesa filtros	<i>Pyrex</i>
Pipeta graduada de 10 mL	<i>Pyrex</i>
Pipeta graduada de 2 mL	<i>Kimax</i>
Pipeta graduada de 1 mL	<i>Kimax</i>
Tubos de ensaye 15*100	<i>Pyrex</i>
Celdas para espectrofotómetro	<i>Perkin Elmer</i>

B. Material Vegetal

VEGETAL	NOMBRE CIENTÍFICO
Betabel	<i>Beta vulgaris</i>
Cebolla morada	<i>Allium cepa</i>
Cereza	<i>Prunus cerasus</i>
Ciruela	<i>Prunus domestica</i>
Col Morada	<i>Brassica oleracea</i>
Fitolaca	<i>Phytolaca americana</i>
Fresa	<i>Fragaria vesca</i>
Flor de Jamaica	<i>Hibiscus sabdariffa</i>
Sandía	<i>Citrullus lanatus</i>
Uva morada	<i>Vitis spp.</i>
Zarzamora	<i>Rubus fruticosus</i>

C. Reactivos

REACTIVOS	MARCA	GRADO
Etanol absoluto	<i>J. T. Baker</i>	G. A
Ácido clorhídrico	<i>J. T. Baker</i>	G. A
Agua destilada	<i>Destilador P.P. Farmacéutica</i>	G. A
Tetraborato de Sodio	<i>Técnica Química S.A.</i>	G. A
Fosfato dibásico de Sodio	<i>Baker Analyzer</i>	G. A
Fosfato monobásico de Potásio	<i>J. T. Baker</i>	G. A
Hidróxido de Sodio	<i>Técnica Química S.A.</i>	G. A
Biftalato de potasio	<i>J. T. Baker</i>	G. A
Acido Tartárico	<i>Técnica Química S.A.</i>	G. A
Fenolftaleína	<i>Sigma de México S.A</i>	G. A
Azul de Bromotimol	<i>Sigma de México S.A</i>	G. A

D. Equipo

EQUIPO	MARCA	MODELO
Refrigerador	NIETO	REB300
Estufa climática	CAISA	INC-2-4-2-TR
Potenciómetro	COLE-PALMER	59003-20
Espectrofotómetro	PERKIN ELMER UV/VIS	LAMBDA 2
Balanza granataria	METTLER	PC 2000
Balanza Analítica	OHAUS	ANALYTICAL PLUS
Estufa	RIOS ROCHA	HS

VI. METODOLOGÍA GENERAL

1. Se realizó una Investigación exhaustiva acerca del origen de los cambios de color en los vegetales, lo que llevó a realizar una analogía con los indicadores ácido-base para emplearlos en valoraciones. Esta indagación se hizo tanto en libros, como vía Internet, además de artículos científicos.
2. La selección de vegetales se realizó en fundamento al color externo e interno que presentan cada uno de ellos ya que estos son factibles a una extracción de pigmentos para una evaluación que determinara si podrían ser funcionales para este proyecto.

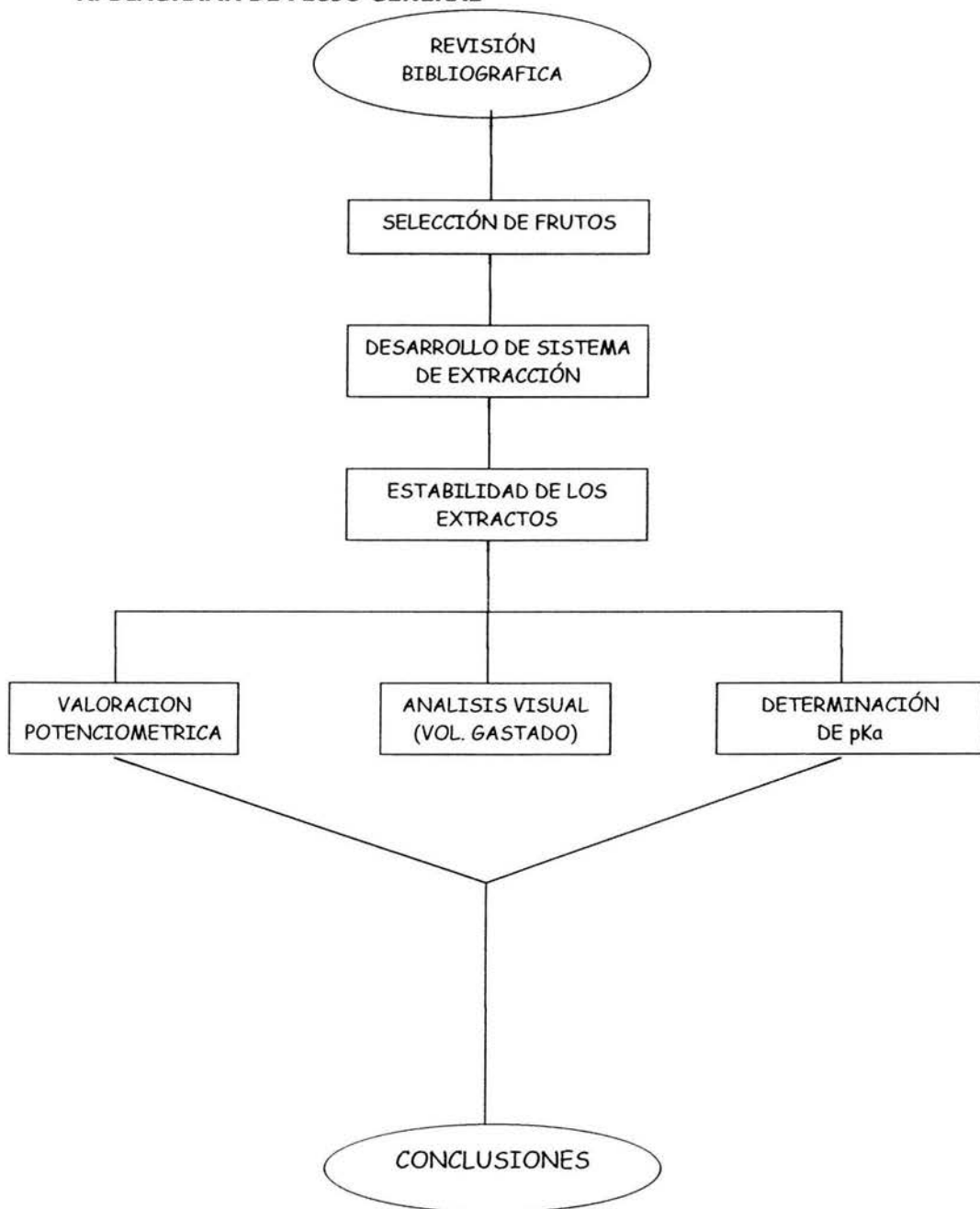
Los vegetales frescos seleccionados fueron:

- Betabel
- Cebolla Morada
- Cereza
- Ciruela
- Col Morada
- Fitolaca
- Flor de Jamaica
- Fresa
- Sandía
- Uva Morada
- Zorzamora

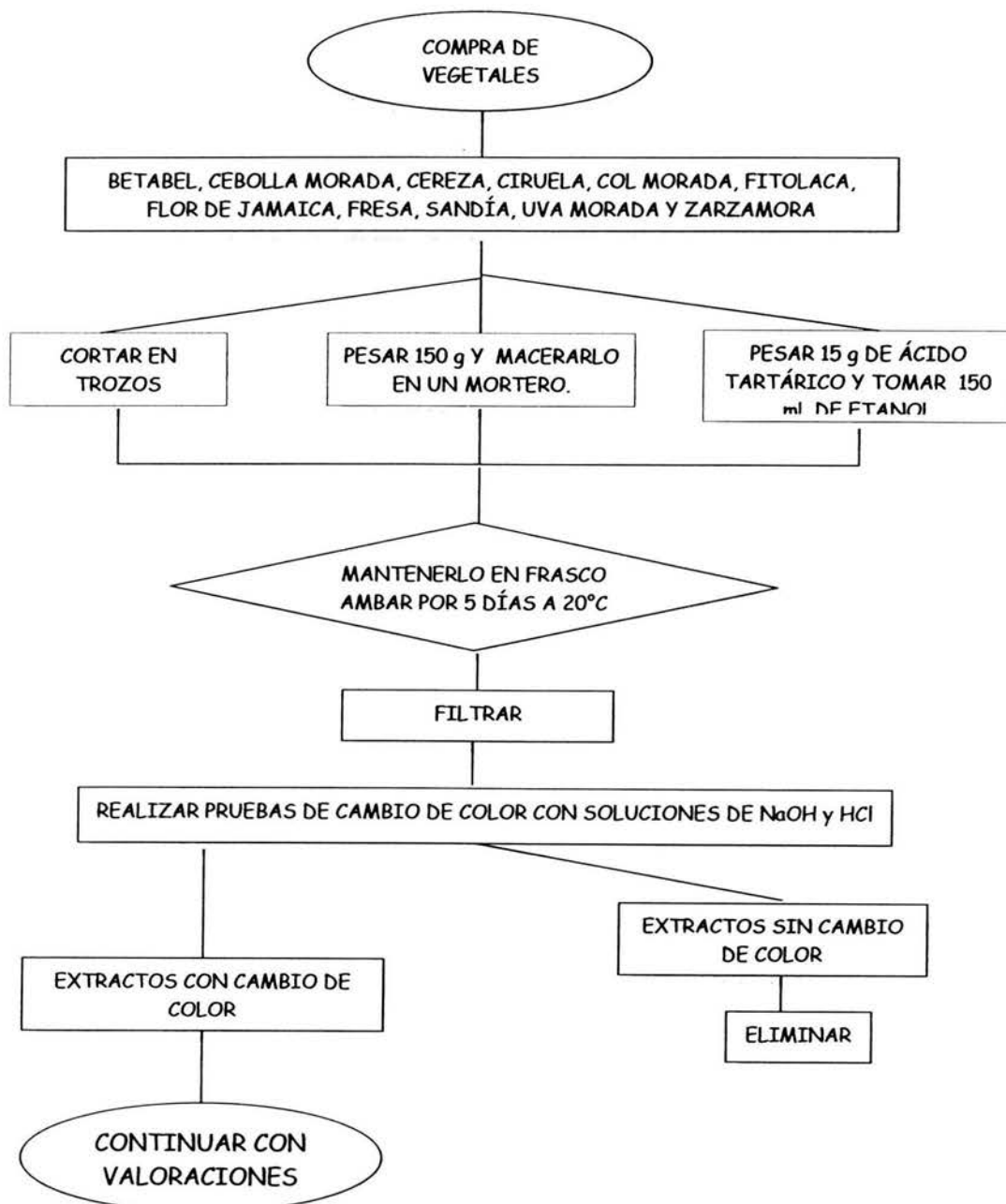
3. Se desarrolló la técnica de extracción de antocianinas aplicada a cada vegetal, que consistió en:
 - a. Compra de vegetal.
 - b. Cortar en trozos pequeños al vegetal.
 - c. Pesar 150 g del vegetal y macerar en un mortero.
 - d. Pesar 15 g de ácido tartárico.
 - e. Medir con una probeta 150 mL de Etanol.
 - f. Vaciar cada uno de los componentes a un frasco de vidrio color ámbar de 250 mL con tapa de baquelita.
 - g. Mantener el Frasco a una Temperatura de 20°C durante 5 días.
 - h. Al término de estos días se procedió a filtrar el extracto para separar el sólido del líquido.
 - i. El Sólido se desecha.
 - j. Al Extracto se le realizan pruebas de cambio de color, agregando unas gotas del extracto a soluciones ácidas de distinta concentración de HCl y básicas.
 - k. Los extractos en los cuales no presentaron cambio de color se eliminaron de este trabajo.
 - l. Los extractos que si presentaron cambio de color se continúa su estudio.
4. Los extractos aceptados son sometidos a un estudio de estabilidad para determinar las condiciones de almacenaje. El cual consistió en:
 - a. Distribuir el volumen obtenido en la extracción en 9 frascos goteros de color ámbar con tapa de polietileno de alta densidad.
 - b. Tres de estos frascos con extracto se colocaron en una estufa climática a una temperatura de 20°C.

- c. Tres de estos frascos con extracto se colocaron en una estufa climática a una temperatura 40°C.
 - d. Tres de estos frascos con extracto se colocaron en un refrigerador a una temperatura de 4°C.
 - e. Estas muestras se analizaran cada 14 días, mediante una valoración ácido-base potenciométrica y de Análisis Visual (Volumen Gastado) de acuerdo a las siguientes concentraciones.
 - NaOH con HCl 1 N
 - HCl con NaOH 1 N
 - NaOH con HCl 0.1 N
 - HCl con NaOH 0.1N
 - HCl con NaOH 0.05 N
 - NaOH con HCl 0.05 N
5. Determinar el intervalos de vire que presente el extracto.
 6. Realizar cálculos estadísticos y Gráficas sigmoidales.
 7. Se determinara el pKa mediante un método espectrofotométrico que se describe a continuación:
 - a. A 11 matraces volumétricos de 25 mL adicionar 1 mL de el extracto.
 - b. Adicionar ácido o base hasta obtener potenciométricamente los pH's de 2 hasta 12 para cada matraz.
 - c. Aforar con agua destilada.
 - d. Realizar barridos entre 365 y 700 nm de longitud de onda en el espectrofotómetro a las soluciones de pH 2 y pH 12.
 - e. Obtener los máximos de absorción para los soluciones pH = 2 y para pH = 12.
 - f. Medir la absorbancia de las 12 soluciones a la longitud de onda de máxima absorbancia de las soluciones de pH 2 y 12.
 - g. Graficar los resultados obtenidos de absorbancia vs pH y detectar el punto isobéptico que indica que ese es el pKa.

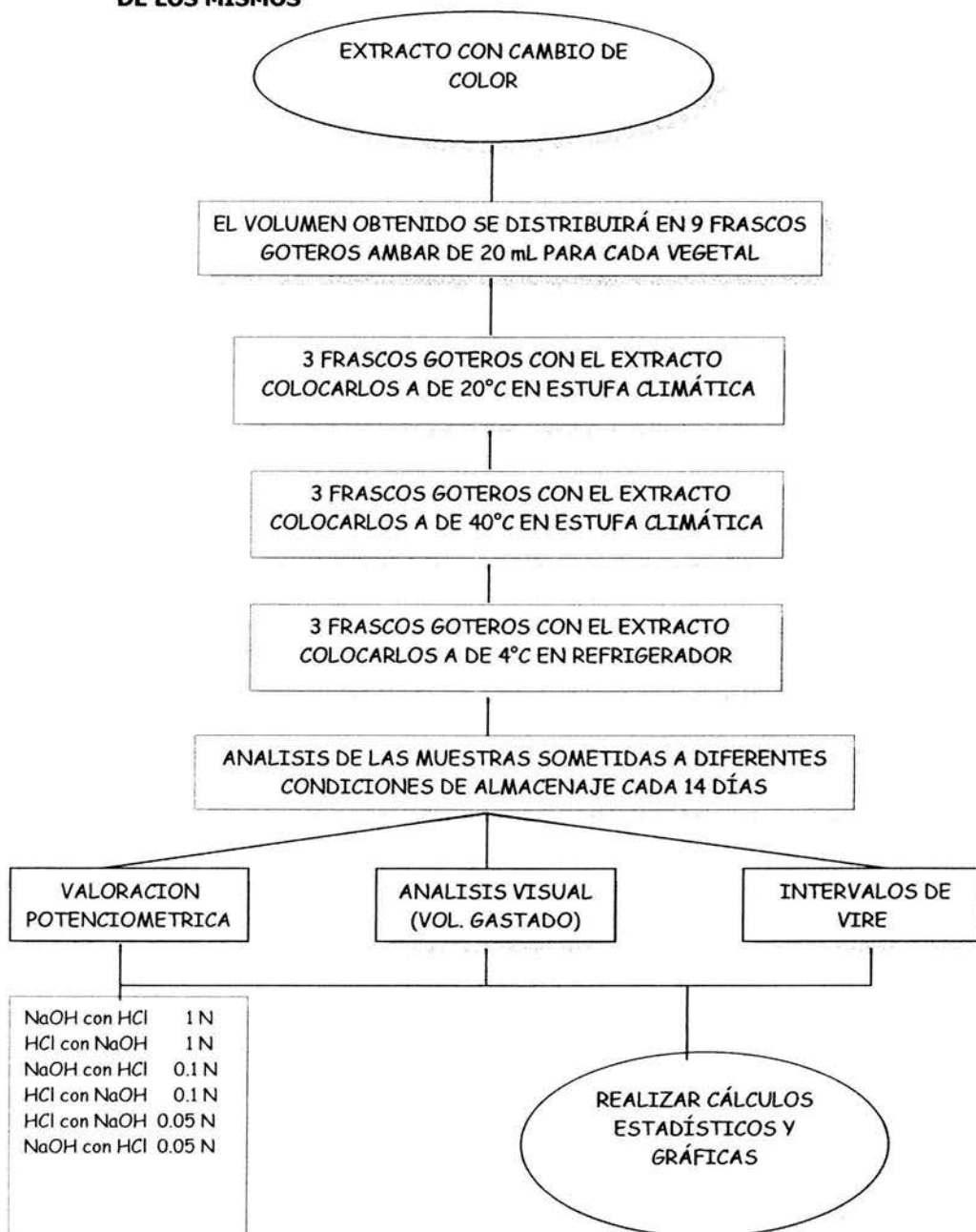
A. DIAGRAMA DE FLUJO GENERAL



1. METODOLOGÍA DESARROLLO DE TÉCNICA DE EXTRACCIÓN

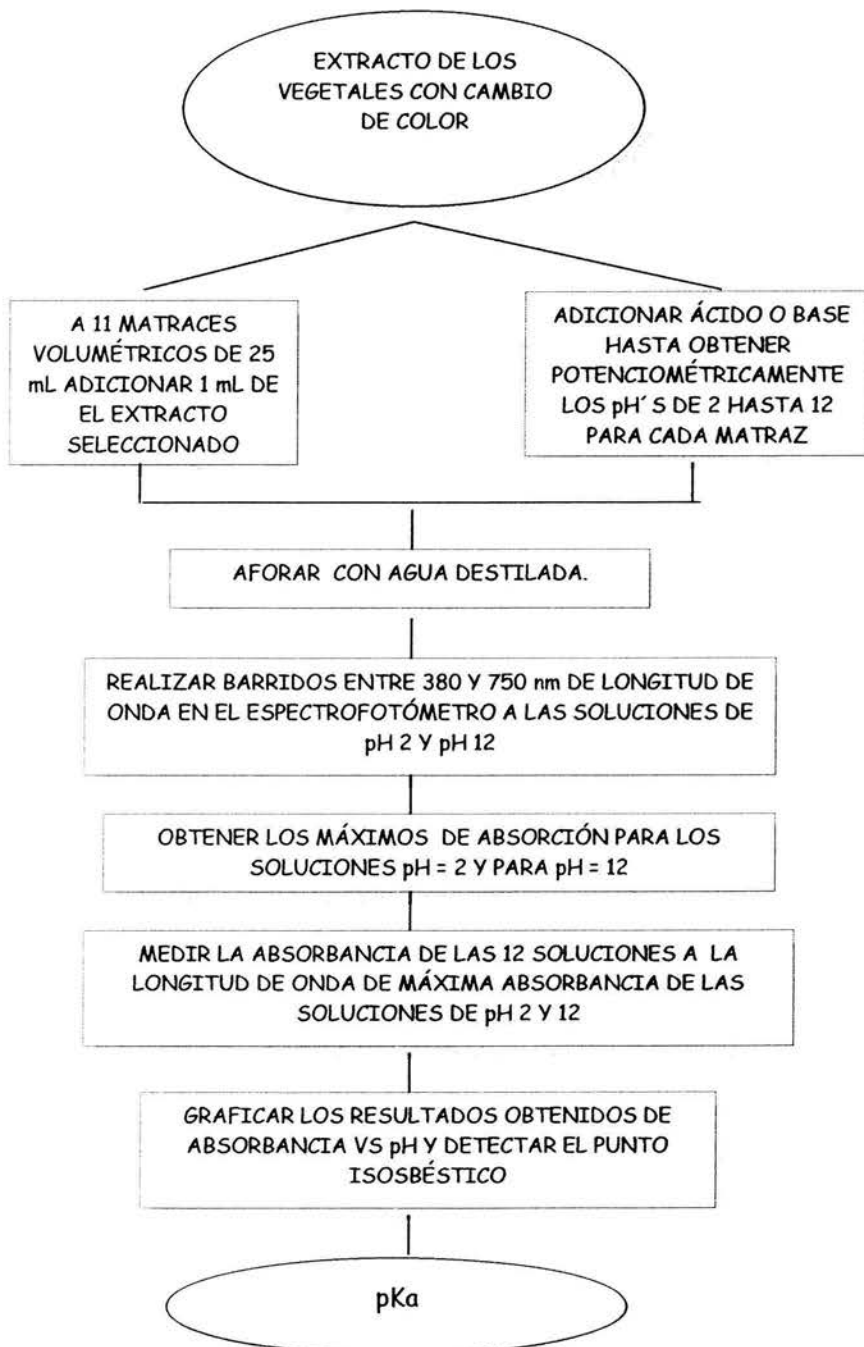


2. METODOLOGÍA EXTRACTOS QUE PRESENTAN CAMBIO DE COLOR Y ESTABILIDAD DE LOS MISMOS



3. METODOLOGÍA

DETERMINACIÓN ESPECTROSCÓPICA DE LA CONSTANTE DE ACIDEZ pKa



VII. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

A. Cebolla Morada

Tabla 13. Resultados de Valoraciones de NaOH con HCl usando extracto de Cebolla morada como indicador sometido a la condición de 4 °C.

Condición		0.05 (Eq/L)				0.1 (Eq/L)				1.0 (Eq/L)					
Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
11	13.298	0.236	1.776	12	13.687	0.218	1.595	13	14.155	0.069	0.487	13	14.155	0.069	0.487
12	12.695	0.364	2.869	13	13.320	0.261	1.956	14	14.088	0.080	0.567	14	14.088	0.080	0.567
13	12.150	0.160	1.315	14	12.250	0.561	4.580	15	13.970	0.117	0.840	15	13.970	0.117	0.840
14	10.785	0.503	4.663	15	10.927	0.339	3.107	16	13.495	0.455	3.368	16	13.495	0.455	3.368
15	6.197	0.242	3.901	16	5.780	0.217	3.755	17	2.292	0.052	2.283	17	2.292	0.052	2.283
16	4.450	0.215	4.827	17	2.737	0.095	3.454	18	2.142	0.058	2.697	18	2.142	0.058	2.697
17	3.585	0.161	4.478	18	2.510	0.036	1.436	19	1.353	0.053	3.929	19	1.353	0.053	3.929
18	2.635	0.053	1.996	19	2.333	0.057	2.437	20	1.120	0.054	4.825	20	1.120	0.054	4.825

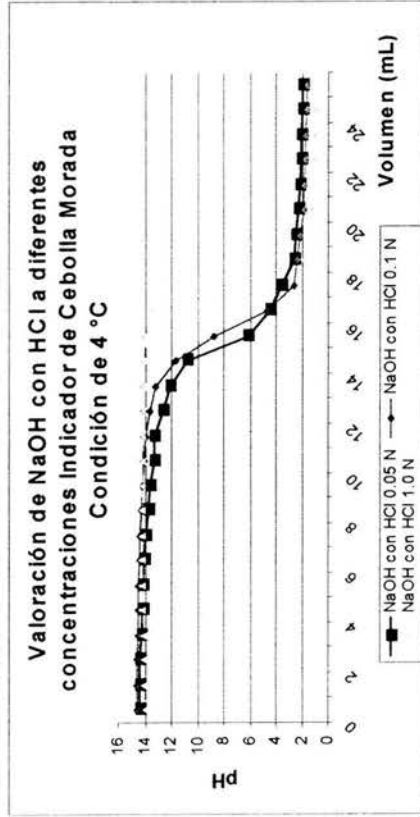


Figura 20. Curva de Valoración de NaOH con HCl a diferentes concentraciones usando Extracto de cebolla morada como indicador almacenado a 4 °C.

Tabla 14. Resultados de Valoraciones de NaOH con HCl usando extracto de Cebolla morada como indicador sometido a la condición de 20 °C.

Condición		20 °C									
		0.05 (Eq/L)			0.1 (Eq/L)			1.0 (Eq/L)			
Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación
10	12.870	0.319	2.475	12	13.798	0.204	1.476	15	14.108	0.060	0.429
11	12.195	0.585	4.793	13	13.482	0.211	1.562	16	14.033	0.077	0.546
12	11.023	0.367	3.331	14	12.718	0.416	3.272	17	13.847	0.124	0.898
13	9.795	0.122	1.243	15	10.616	0.381	3.592	18	12.953	0.484	3.739
14	6.325	0.178	2.809	16	5.596	0.246	4.397	19	1.937	0.082	4.254
15	4.912	0.061	1.239	17	3.358	0.085	2.539	20	1.492	0.063	4.206
16	4.213	0.116	2.751	18	2.656	0.105	3.954	21	1.183	0.050	4.197
17	3.418	0.090	2.643	19	2.092	0.049	2.327	22	1.105	0.051	4.606

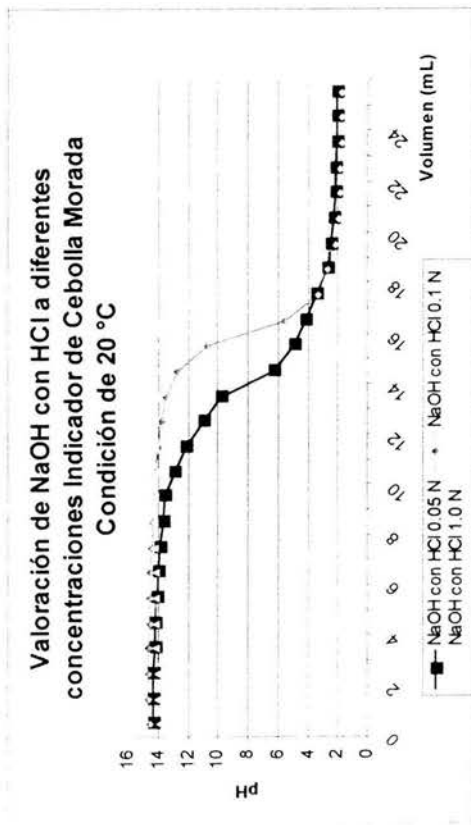


Figura 21. Curva de Valoración de NaOH con HCl a diferentes concentraciones usando Extracto de cebolla morada como indicador almacenado a 20 °C.

Tabla 15. Resultados de Valoraciones de NaOH con HCl usando extracto de Cebolla morada como indicador sometido a la condición de 40°C.

Condición		40 °C													
		0.05 (Eq/L)				0.1 (Eq/L)				1.0 (Eq/L)					
Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
10	12.578	0.462	3.677	12	13.840	0.277	2.000	15	14.135	0.056	0.395				
11	11.513	0.233	2.021	13	13.560	0.308	2.275	16	14.038	0.071	0.507				
12	10.768	0.173	1.609	14	12.974	0.525	4.044	17	13.887	0.056	0.404				
13	9.583	0.403	4.209	15	11.470	0.472	4.117	18	13.023	0.516	3.960				
14	6.283	0.213	3.385	16	6.194	0.212	3.430	19	2.390	0.081	3.379				
15	5.247	0.230	4.393	17	3.270	0.107	3.265	20	1.353	0.062	4.547				
16	3.720	0.074	1.988	18	2.804	0.106	3.771	21	1.092	0.042	3.817				
17	3.170	0.112	3.541	19	2.510	0.125	4.995	22	1.173	0.059	4.989				

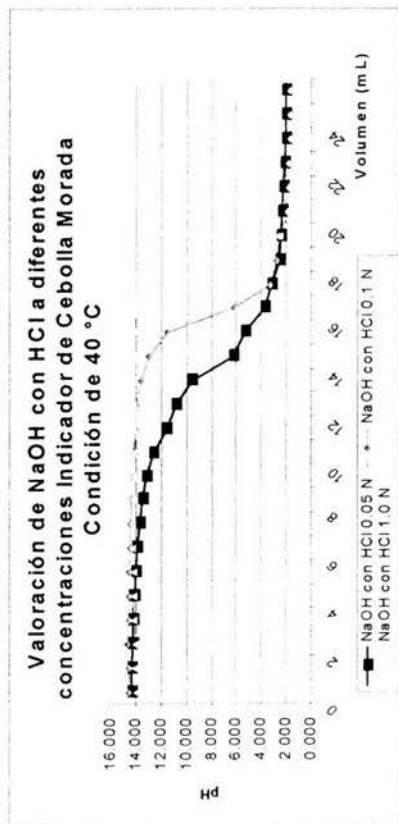


Figura 22. Curva de Valoración de NaOH con HCl a diferentes concentraciones usando Extracto de cebolla morada como indicador almacenado a 40 °C.

Tabla 16. Resultados de Valoraciones de HCl con NaOH usando extracto de Cebolla morada como indicador sometido a la condición de 4 °C.

Condición		0.05 (Eq/L)					0.1 (Eq/L)					1.0 (Eq/L)				
Vol (mL)	pH Medio	Desviación n Estándar	Coefficient e de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación n Estándar	Coefficient e de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación n Estándar	Coefficient e de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación n Estándar	Coefficient e de Variación	
15	2.28	0.014	0.620	19	1.967	0.071	3.607	18	0.673	0.022	3.297	18	0.673	0.022	3.297	
16	2.645	0.021	0.802	20	2.207	0.050	2.281	19	0.880	0.022	2.455	19	0.880	0.022	2.455	
17	3.39	0.085	2.503	21	2.797	0.072	2.587	20	1.230	0.029	2.393	20	1.230	0.029	2.393	
18	5.485	0.092	1.676	22	5.590	0.148	2.647	21	2.160	0.037	1.691	21	2.160	0.037	1.691	
19	12.17	0.240	1.975	23	11.170	0.406	3.633	22	13.015	0.064	0.488	22	13.015	0.064	0.488	
20	12.565	0.587	4.671	24	13.110	0.166	1.270	23	13.373	0.264	1.976	23	13.373	0.264	1.976	
21	13.345	0.148	1.113	25	13.583	0.172	1.267	24	13.510	0.306	2.269	24	13.510	0.306	2.269	
22	13.53	0.184	1.359	26	13.787	0.223	1.616	25	13.650	0.261	1.909	25	13.650	0.261	1.909	

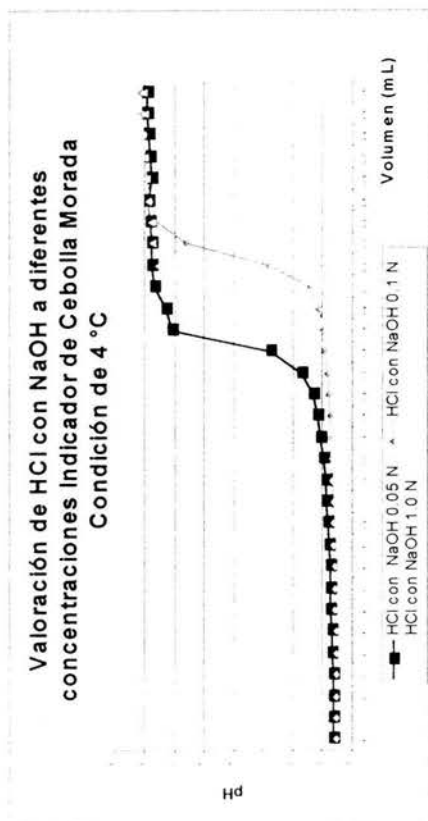


Figura 23. Curva de Valoración de HCl con NaOH a diferentes concentraciones usando Extracto de cebolla morada como indicador almacenado a 4 °C.

Tabla 17. Resultados de Valoraciones de HCl con NaOH usando extracto de Cebolla morada como indicador sometido a la condición de 20 °C.

Condición		20 °C															
0.05 (Eq/L)						0.1 (Eq/L)						1.0 (Eq/L)					
Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación		
13	2.2535	0.0922	4.0913	20	2.400	0.062	2.569	18	0.822	0.023	2.774						
14	2.4541	0.0651	2.6544	21	2.480	0.057	2.305	19	0.992	0.025	2.510						
15	3.1267	0.1201	3.8424	22	2.958	0.050	1.688	20	1.292	0.028	2.148						
16	4.5333	0.0651	1.4352	23	4.428	0.125	2.829	21	2.604	0.088	3.387						
17	10.7229	0.4986	4.6496	24	12.273	0.211	1.717	22	13.268	0.519	3.911						
18	12.5967	0.0751	0.5958	25	13.245	0.186	1.402	23	13.562	0.485	3.573						
19	13.5333	0.3707	2.7393	26	13.550	0.213	1.570	24	13.688	0.479	3.502						
20	13.6433	0.2759	2.0224	27	13.720	0.226	1.646	25	13.798	0.438	3.173						

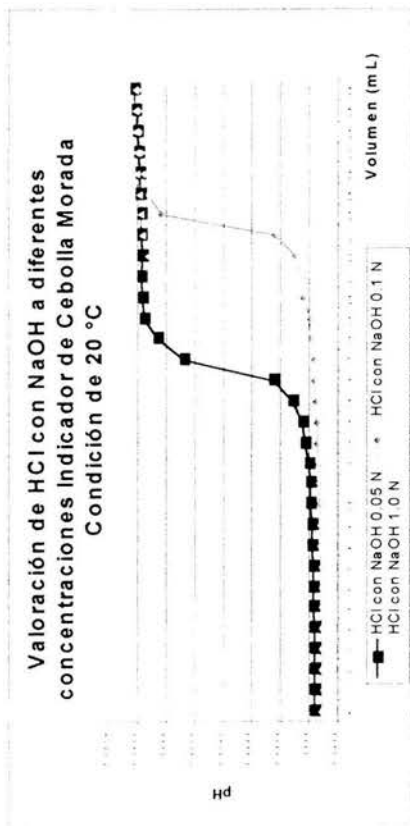


Figura 24. Curva de Valoración de HCl con NaOH a diferentes concentraciones usando Extracto de cebolla morada como indicador almacenado a 20 °C.

Tabla 18. Resultados de Valoraciones de HCl con NaOH usando extracto de Cebolla morada como indicador sometido a la condición de 40 °C.

Condición		40 °C									
		0.05 (Eq/L)			0.1 (Eq/L)			1.0 (Eq/L)			
Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
14	2.173	0.107	4.920	20	2.050	0.094	4.576	18	0.742	0.035	4.703
15	2.330	0.095	4.094	21	2.360	0.080	3.407	19	1.157	0.036	3.125
16	2.847	0.100	3.519	22	2.828	0.105	3.725	20	1.172	0.055	4.719
17	3.763	0.180	4.793	23	4.225	0.172	4.079	21	2.048	0.062	3.016
18	11.485	0.195	1.701	24	11.770	0.391	3.325	22	13.115	0.255	1.943
19	13.117	0.270	2.060	25	13.023	0.082	0.628	23	13.570	0.298	2.196
20	13.423	0.230	1.716	26	13.360	0.035	0.259	24	13.728	0.319	2.322
21	13.603	0.266	1.954	27	13.543	0.043	0.315	25	13.818	0.319	2.307

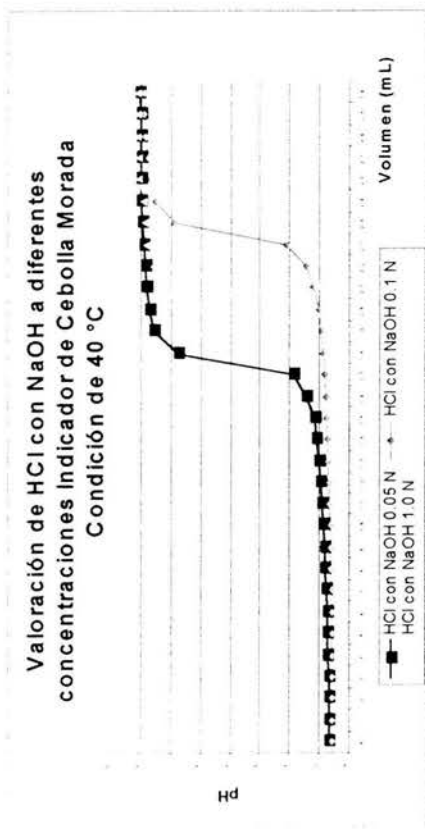


Figura 25. Curva de Valoración de HCl con NaOH a diferentes concentraciones usando Extracto de cebolla morada como indicador almacenado a 40 °C.

Tabla 19. Valores de Volumen gastado para extracto de Cebolla Morada Valoración de NaOH con HCl

Concentración del Ácido (Eq/L)	4 °C			20 °C			40 °C		
	Volumen Promedio	D.E.*	C.V.**	Volumen Promedio	D.E.*	C.V.**	Volumen Promedio	D.E.*	C.V.**
0.05	14.042	0.434	2.887	12.804	0.587	3.965	13.466	0.430	2.786
0.1	15.833	0.628	3.971	16.625	0.434	2.614	15.412	0.162	0.992
1.0	16.438	0.090	0.490	18.438	0.273	1.483	18.594	0.099	0.536

Tabla 20. Valores de Volumen gastado para extracto de Cebolla Morada Valoración de HCl con NaOH

Concentración del Ácido (Eq/L)	4 °C			20 °C			40 °C		
	Volumen Promedio	D.E.*	C.V.**	Volumen Promedio	D.E.*	C.V.**	Volumen Promedio	D.E.*	C.V.**
0.05	18.201	0.811	3.219	16.274	0.699	2.880	17.001	0.490	1.960
0.1	23.329	0.481	2.063	23.736	0.411	1.732	23.413	0.398	1.700
1.0	21.577	0.683	3.168	21.533	0.623	2.897	21.555	0.599	2.781

* = Desviación Estándar

** = Coeficiente de Variación

Tabla 21. Valores de Absorbancia obtenidos de la determinación de pKa para Extracto de Cebolla Morada por el método Espectrofotométrico.

Máximo de Absorbancia a pH Básico:		470 nm
Máximo de Absorbancia a pH Acido:		513.6 nm
pH	Absorbancia (470nm)	Absorbancia (513.6 nm)
2	0.0609	0.133
3	0.0707	0.099
4	0.0733	0.087
5	0.081	0.09
6	0.089	0.098
7	0.113	0.096
8	0.107	0.095
9	0.125	0.101
10	0.134	0.109
11	0.149	0.096
12	0.157	0.087



Figura 26. Curva de valores de absorbancia a distintos pH's del extracto de Cebolla Morada Para determinar el pKa por punto isohéptico.

1. Vire

Basándonos en los resultados obtenidos y mostrados de las *tablas 13, 14, 15, 16, 17 y 18* y de observar las *figuras 20 a 25* podemos decir que para el:

a) Análisis Potenciométrico de NaOH con HCl.

- Que los valores de Desviación Estándar están en la totalidad de los casos por debajo de 1 lo que indica poca variabilidad en los datos.
- En el caso de Coeficientes de Variación para la mayoría de las determinaciones son valores por encima de 2, esto significa que dichos valores no cumplen con los parámetros para exactitud y reproducibilidad del método usado ya que estos valores deberían estar por debajo del valor establecido, sin embargo es necesario mencionar los factores que influyen en la obtención de tales datos, tales como la naturaleza de las soluciones, es decir, los reactivos con los que fueron preparados, incluso la habilidad del analista, el equipo etc.
- Es importante mencionar que la preparación de las soluciones fue basada de acuerdo a lo establecido en la FEUM 7^a. Edición, aunque las dos últimas determinaciones presentaron una variación muy marcada con respecto a las primeras cuatro, lo que lleva a pensar que el lote de agua con el que fueron preparadas se cree estuvo contaminada.
- A pesar de lo anterior se puede observar una homogeneidad de las curvas entre las distintas condiciones de temperatura a las que se sometió al extracto utilizado, ya que se presentó siempre primero el punto de inflexión en la valoración con las soluciones de menor concentración (0.05 N), seguida por la de concentración intermedia (0.1 N) y al final para la de mayor concentración (1.0 N).
- También se observa claramente como los puntos de inflexión de las valoraciones con las soluciones de mayor concentración son más marcados y van atenuándose conforme se disminuye en la concentración de las soluciones, lo que indica que de igual modo que el extracto no modifica el comportamiento de la curva indicando que el extracto es un ácido o base débil que no influye significativamente en la forma de la curva, y que el único punto de inflexión encontrado se debe únicamente al de la especie que está siendo valorada con el estándar, ya sea por el ácido o por la base.

2. Análisis Visual (volumen gastado).

- Al realizar el cálculo del Coeficiente de Variación y Desviaciones Estándar indicados en las *tablas 19 y 20* de cada uno de los valores de volumen adicionados a la muestra obtenidos al momento del cambio de color observado, da como resultado que ningún valor de desviación estándar está por encima de 1, pero los valores para coeficientes de variación nuevamente existen valores por arriba de 2, lo que nos lleva nuevamente a atribuir este resultado a la gran influencia que tienen los valores extremos en las Medias Aritméticas debido a lo ya mencionado acerca de la preparación de reactivos y del agua contaminada.
- Por otra parte podemos observar en las *tablas 19 y 20* la coincidencia de cada uno de estos valores con los que se encuentran en el punto de inflexión de las curvas obtenidas potenciométricamente, es decir, cada valor de volumen gastado se encuentra dentro del

intervalo del volumen de antes y después del punto de inflexión de la curva potenciométrica, lo que nos lleva a pensar que el cambio de color del extracto está próximo a la neutralidad, ya que este se presenta también en el punto de equivalencia de la reacción, en este caso a pH próximo a la neutralidad, y que el pKa de la mayoría de los componentes coloridos en el extracto se encuentra próximo a 7.

3. Determinación de pKa

- A juzgar por los resultados de la *tabla 21* y de observar la *figura 26* el punto isobéptico de se encuentra a pH de 6.45 ya que es en este valor donde la mitad de los componentes que se ionizan contienen una carga neutra y la otra mitad de ellos contienen carga, esto debido ya sea a la pérdida de un protón al encontrarse a un pH casi neutro o bien por el contrario a la ganancia de estos tal como si se tratara de una base de Brønsted Lowry, esto además se ve demostrado por estos extractos al cambiar de color precisamente en el punto de equivalencia de las valoraciones ácido - base como ya se comentó anteriormente.

B. Col Morada

Tabla 22. Resultados de Valoraciones de NaOH con HCl usando extracto de Col morada como indicador sometido a la condición de 4 °C.

Condición		4 °C									
		0.05 (Eq/L)			0.1 (Eq/L)			1.0 (Eq/L)			
Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
13	13.303	0.195	1.468	14	14.467	0.163	1.129	15	14.348	0.167	1.167
14	12.587	0.082	0.655	15	14.172	0.078	0.547	16	14.342	0.323	2.249
15	11.428	0.160	1.402	16	13.552	0.265	1.958	17	14.208	0.388	2.730
16	7.803	0.136	1.749	17	12.162	0.069	0.571	18	13.483	0.016	0.121
17	5.828	0.122	2.091	18	6.828	0.235	3.436	19	2.130	0.073	3.450
18	3.635	0.075	2.057	19	3.597	0.048	1.335	20	1.258	0.004	0.324
19	2.742	0.029	1.042	20	2.533	0.057	2.256	21	1.027	0.016	1.591
20	2.410	0.073	3.049	21	2.218	0.004	0.184	22	0.892	0.004	0.458

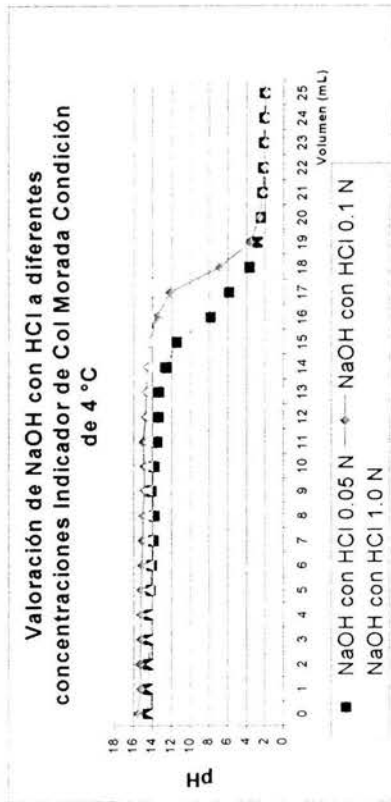


Figura 27. Curva de Valoración de NaOH con HCl a diferentes concentraciones usando Extracto de col morada como indicador almacenado a 4 °C.

Tabla 23. Resultados de Valoraciones de NaOH con HCl usando extracto de Col morada como indicador sometido a la condición de 20 °C.

Condición		0.05 (Eq/L)					0.1 (Eq/L)					1.0 (Eq/L)				
Vol. (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol. (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol. (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol. (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	
13	13.302	0.077	0.575	14	14.392	0.269	1.870	15	15.075	0.208	1.381	15	15.075	0.208	1.381	
14	12.717	0.194	1.522	15	14.092	0.225	1.595	16	14.950	0.122	0.819	16	14.950	0.122	0.819	
15	11.618	0.095	0.815	16	13.643	0.041	0.299	17	14.808	0.241	1.627	17	14.808	0.241	1.627	
16	7.753	0.155	1.996	17	12.213	0.156	1.278	18	13.833	0.204	1.476	18	13.833	0.204	1.476	
17	5.833	0.164	2.806	18	6.823	0.232	3.405	19	1.833	0.008	0.445	19	1.833	0.008	0.445	
18	3.517	0.041	1.161	19	3.612	0.010	0.272	20	1.408	0.045	3.189	20	1.408	0.045	3.189	
19	2.680	0.055	2.044	20	2.523	0.067	2.637	21	1.193	0.033	2.737	21	1.193	0.033	2.737	
20	2.385	0.005	0.230	21	2.212	0.016	0.724	22	1.053	0.016	1.550	22	1.053	0.016	1.550	

Valoración de NaOH con HCl a diferentes concentraciones Indicador de Col Morada Condición de 20 °C

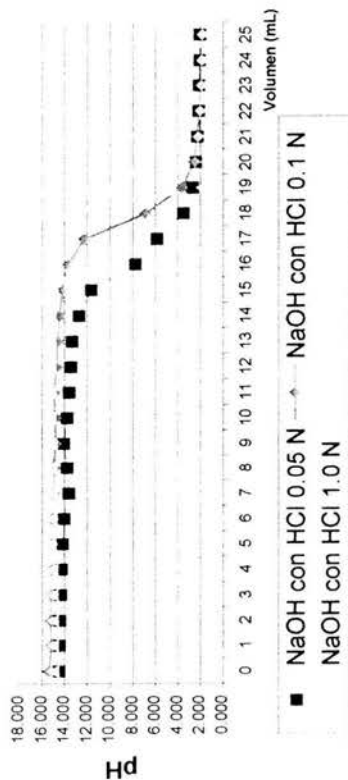


Figura 28. Curva de Valoración de NaOH con HCl a diferentes concentraciones usando Extracto de col morada como indicador almacenado a 20 °C.

Tabla 24 Resultados de Valoraciones de NaOH con HCl usando extracto de Col morada como indicador sometido a la condición de 40°C.

Condición	40 °C										
	0.05 (Eq/L)			0.1 (Eq/L)			1.0 (Eq/L)				
Vol (ml)	pH Medio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación	Vol (ml)	pH Medio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación	Vol (ml)	pH Medio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación
11	13.367	0.167	1.248	14	14.193	0.160	1.128	15	15.088	0.204	1.353
12	12.992	0.201	1.544	15	13.967	0.134	0.961	16	14.967	0.121	0.809
13	12.060	0.217	1.798	16	13.580	0.062	0.456	17	14.832	0.236	1.592
14	10.853	0.115	1.056	17	12.397	0.160	1.291	18	13.945	0.307	2.200
15	6.915	0.169	2.440	18	6.110	0.209	3.416	19	1.930	0.046	2.408
16	5.677	0.098	1.732	19	2.853	0.036	1.267	20	1.488	0.051	3.411
17	3.867	0.121	3.132	20	2.345	0.092	3.925	21	1.210	0.047	3.876
18	2.928	0.022	0.761	21	2.093	0.061	2.893	22	1.067	0.039	3.687

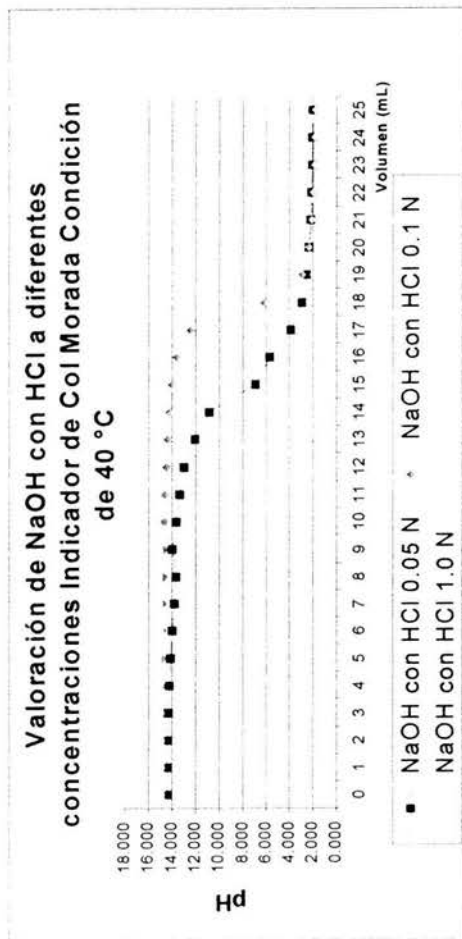


Figura 29. Curva de Valoración de NaOH con HCl a diferentes concentraciones usando Extracto de col morada como indicador almacenado a 40 °C.

Tabla 25. Resultados de Valoraciones de HCl con NaOH usando extracto de Col morada como indicador sometido a la condición de 4 °C.

Condición		0.05 (Eq/L)				0.1 (Eq/L)				1.0 (Eq/L)					
Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación
19	2.392	0.053	2.219	18	1.948	0.020	1.048	17	0.825	0.012	1.485				
20	2.635	0.012	0.465	19	2.203	0.057	2.594	18	0.933	0.008	0.875				
21	3.203	0.057	1.784	20	2.667	0.065	2.449	19	1.093	0.008	0.747				
22	4.650	0.024	0.527	21	4.130	0.049	1.186	20	1.433	0.033	2.279				
23	11.067	0.065	0.590	22	10.917	0.180	1.645	21	10.782	0.053	0.492				
24	12.742	0.265	2.083	23	13.175	0.159	1.208	22	13.733	0.033	0.238				
25	13.433	0.033	0.243	24	13.700	0.049	0.358	23	13.995	0.061	0.438				
26	13.700	0.049	0.358	25	14.000	0.098	0.700	24	14.158	0.167	1.182				

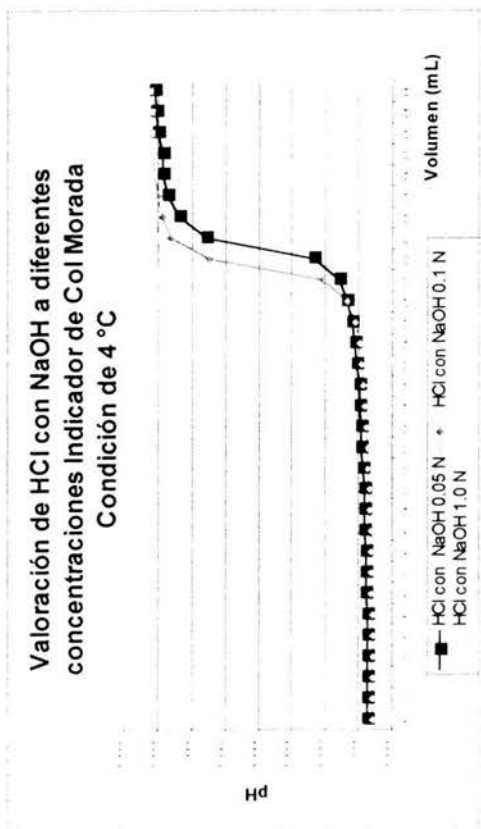


Figura 30. Curva de Valoración de HCl con NaOH a diferentes concentraciones usando Extracto de col morada como indicador almacenado a 4 °C.

Tabla 26. Resultados de Valoraciones de HCl con NaOH usando extracto de Col morada como indicador sometido a la condición de 20 °C.

Condición		20 °C									
		0.05 (Eq/L)			0.1 (Eq/L)			1.0 (Eq/L)			
Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación
19	2.402	0.054	2.241	18	1.937	0.038	1.977	18	0.863	0.005	0.598
20	2.643	0.026	0.977	19	2.188	0.074	3.376	19	1.042	0.029	2.743
21	3.208	0.056	1.746	20	2.642	0.098	3.712	20	1.347	0.026	1.917
22	4.627	0.067	1.438	21	4.092	0.114	2.793	21	5.347	0.010	0.193
23	11.170	0.248	2.224	22	12.472	0.032	0.256	22	13.530	0.015	0.115
24	12.790	0.311	2.435	23	13.242	0.204	1.541	23	13.810	0.015	0.112
25	13.457	0.060	0.445	24	13.727	0.073	0.535	24	13.953	0.026	0.185
26	13.717	0.057	0.417	25	14.015	0.098	0.696	25	14.073	0.026	0.183

Valoración de HCl con NaOH a diferentes concentraciones Indicador de Col Morada
Condición de 20 °C

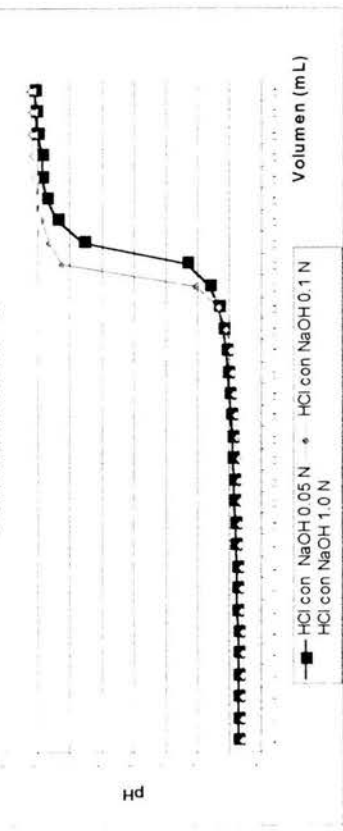


Figura 31. Curva de Valoración de HCl con NaOH a diferentes concentraciones usando Extracto de col morada como indicador almacenado a 20 °C.

Tabla 27. Resultados de Valoraciones de HCl con NaOH usando extracto de Col morada como indicador sometido a la condición de 40 °C.

Condición	40 °C										
	0.05 (Eq/L)			0.1 (Eq/L)			1.0 (Eq/L)				
Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
25	2.415	0.070	2.890	18	1.942	0.029	1.472	17	0.710	0.024	3.450
26	2.660	0.031	1.165	19	2.197	0.063	2.845	18	0.848	0.020	2.406
27	3.207	0.056	1.749	20	2.643	0.095	3.594	19	0.998	0.053	5.316
28	4.693	0.104	2.217	21	4.110	0.076	1.847	20	1.353	0.016	1.207
29	11.083	0.070	0.629	22	10.902	0.176	1.614	21	10.843	0.237	2.184
30	12.697	0.266	2.097	23	13.258	0.232	1.753	22	13.462	0.127	0.940
31	13.403	0.086	0.643	24	13.742	0.104	0.757	23	13.667	0.016	0.119
32	13.682	0.073	0.532	25	14.028	0.108	0.771	24	13.768	0.053	0.385

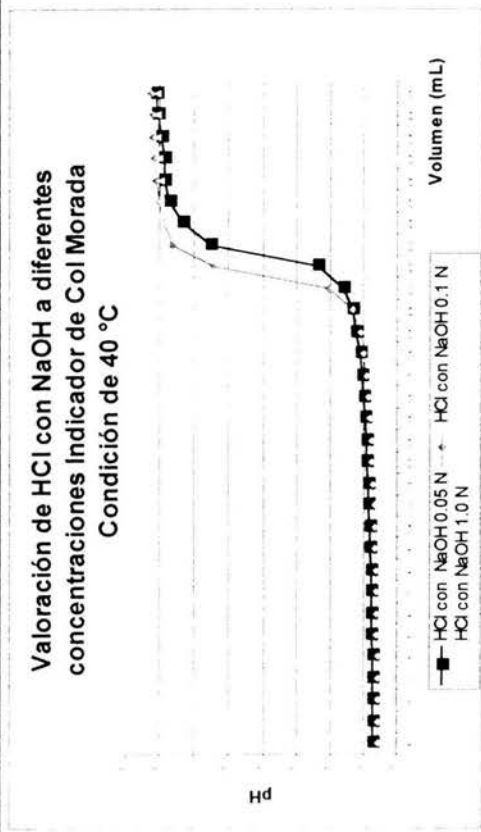


Figura 32. Curva de Valoración de HCl con NaOH a diferentes concentraciones usando Extracto de col morada como indicador almacenado a 40 °C.

Tabla 28. Valores de Volumen gastado para extracto de Col Morada Valoración de NaOH con HCl

Concentración del Ácido (Eq/L)	4 °C			20 °C			40 °C		
	Volumen Promedio	D.E.*	C.V.**	Volumen Promedio	D.E.*	C.V.**	Volumen Promedio	D.E.*	C.V.**
0.05	15.042	0.434	2.887	21.804	0.587	3.965	14.466	0.430	2.786
0.1	17.833	0.628	3.971	17.025	0.434	2.614	17.412	0.162	0.992
1.0	18.438	0.090	0.490	18.438	0.273	1.483	18.594	0.099	0.536

Tabla 29. Valores de Volumen gastado para extracto de Col Morada Valoración de HCl con NaOH

Concentración del Ácido (Eq/L)	4 °C			20 °C			40 °C		
	Volumen Promedio	D.E.*	C.V.**	Volumen Promedio	D.E.*	C.V.**	Volumen Promedio	D.E.*	C.V.**
0.05	22.201	0.811	3.219	22.274	0.699	2.880	22.001	0.490	1.960
0.1	21.329	0.481	2.063	21.736	0.411	1.732	21.413	0.398	1.700
1.0	20.577	0.683	3.168	21.533	0.623	2.897	20.555	0.599	2.781

* = Desviación Estándar

** = Coeficiente de Variación

Tabla 30. Valores de Absorbancia obtenidos de la determinación de pKa para Extracto de Cebolla Morada por el método Espectrofotométrico.

Máximo de Absorbancia a pH Básico:		607.6 nm
Máximo de Absorbancia a pH Acido:		528.4 nm
pH	Absorbancia (607.6 nm)	Absorbancia (528.4 nm)
2	0.077	0.133
3	0.075	0.099
4	0.07	0.087
5	0.072	0.09
6	0.08	0.098
7	0.113	0.096
8	0.107	0.094
9	0.125	0.101
10	0.134	0.109
11	0.149	0.096
12	0.157	0.087

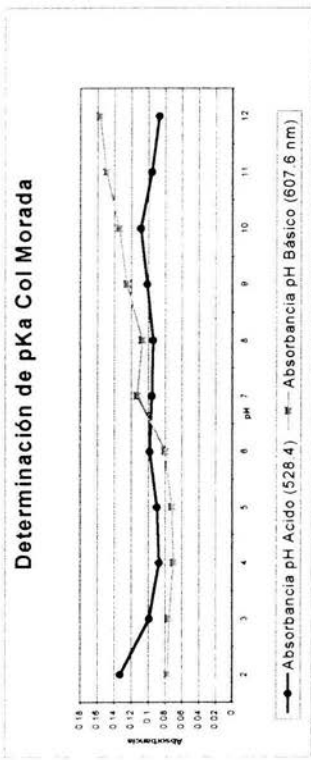


Figura 33. Curva de valores de absorbancia a distintos pH's del extracto de Col Morada Para determinar el pKa por punto isosbético

1. Vire

Basándonos en los resultados obtenidos y mostrados de las *tablas 22 a 27* y *figuras 27 a 32* podemos decir que para el extracto de Col morada tenemos:

a) Análisis Potenciométrico de NaOH con HCl.

- Al analizar los datos se obtuvieron desviaciones estándar debajo de 1 que muestra que no hay una gran variabilidad en nuestros datos, aunque el Coeficiente de Variación en algunos casos da valores arriba de 2 % los que nos hace pensar que la media de los datos fue la que marco ese valor tan alto ya que en las dos últimas determinaciones los valores se incrementaron a diferencia de las otras cuatro, lo que nos hace pensar que esto sucedió al preparar las soluciones de NaOH y HCl con agua que se cree contaminada.
- Las curvas muestran una típica curva sigmoideal que varía de acuerdo a la concentración con la que se trabajó para NaOH y HCl.

b) Análisis Potenciométrico de HCl con NaOH.

- Los resultados obtenidos para estas valoraciones también muestran que las desviaciones estándar están debajo de 1 que indican que no hay una gran variabilidad, aunque el Coeficiente de Variación en algunos casos también existen valores arriba de 2% por lo que el mismo factor del agua ya mencionado afectó los valores obtenidos de Coeficiente de variación.
- Las curvas muestran una típica curva sigmoideal que varía de acuerdo a la concentración con la que se trabajó para HCl y NaOH.

2. Análisis Visual (volumen gastado).

- Los resultados obtenidos de acuerdo con el volumen promedio gastado presentados en las *tablas 28 y 29*, los valores de Desviación Estándar y Coeficiente de Variación no muestran datos que nos hagan pensar en una variabilidad marcada, ya que las Desviaciones Estándar específicamente no sobrepasan siquiera de 1.
- Es preciso mencionar que el extracto de Col Morada condición de Temperatura de 40°C al cabo de las últimas 3 determinaciones era de color café y no mostraba el color inicial que era rojo, por lo que no se podía determinar visualmente el vire de color.
- También es importante mencionar que el extracto a 4°C conservó todas sus cualidades con respecto al color obtenido en las seis determinaciones realizadas y al cambio de color obtenido.

3. Determinación de pKa.

Para determinar el pKa del extracto debieron previamente obtenerse los máximos de absorción del extracto, primero a pH 2 y posteriormente a pH 12, considerando mantener la concentración del extracto a los diferentes pH's, de esto se obtuvo que los máximos obtenidos se encuentran a la longitud de onda ubicada de acuerdo al espectro electromagnético donde el color transmitidos por la solución coincide con el esperado, es decir para pH básico el máximo se obtuvo a 607.6 nm, y es esta región donde el color transmitido es de verde a amarillo, precisamente el color que presenta la solución básica con el extracto, y a su vez la solución ácida que presentó máximo de absorción a 528.4 nm donde precisamente el color transmitido es el rojo, color que se percibe principalmente de la solución a pH ácido con el extracto.

Según la *figura 33* y con los datos de la *tabla 30* al analizar las curvas obtenidas a los distintos valores de pH manteniendo fija la longitud de onda primero la de pH básico (607.6 nm) y después la de pH ácido (528.4 nm) se observa una curva muy similar a un diagrama de distribución de especies, de ambas curvas se observa una disminución de absorbancia conforme se aumente o disminuya el pH según sea el caso hasta que en un punto ambas curvas se cruzan, dicho punto podemos asumir que se trate del estado de transición de acuerdo a la siguiente ecuación $[InH = In^- + H^+]$, esto es la misma cantidad de componentes ionizados que componentes no ionizados a ese pH, lo cual indica el pKa de dichos componentes, para este caso un pH 6.88, sin embargo a diferencia de lo que marca la técnica utilizada estas curvas comienzan a subir en el extremo después de haber cruzado, dichos aumentos de absorbancia pueden deberse a especies que no presentan una coloración perceptible al ojo humano pero que absorben luz a la longitud de onda empleada, estas especies diferentes a las deseadas se presentan debido a la inespecificidad de la técnica de extracción, esto debido a la gran cantidad de componentes que se encuentran en los frutos por tratarse de fuentes naturales.

C. Zarzamora

Tabla 31. Resultados de Valoraciones de NaOH con HCl usando extracto de Zarzamora como indicador sometido a la condición de 4 °C.

Condición	0.05 (Eq/L)				0.1 (Eq/L)				1.0 (Eq/L)			
	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
J3	13.461	0.321	2.386	2.386	14	14.681	0.449	3.058	15	14.754	0.541	3.665
J4	12.831	0.329	2.565	2.565	15	14.497	0.432	2.980	16	14.405	0.298	2.069
J5	11.587	0.218	1.882	1.882	16	13.412	0.274	2.039	17	14.382	0.365	2.539
J6	7.970	0.181	2.267	2.267	17	12.357	0.349	2.822	18	13.717	0.320	2.332
J7	5.848	0.124	2.126	2.126	18	6.908	0.017	0.249	19	2.104	0.009	0.408
J8	3.523	0.040	1.149	1.149	19	3.646	0.129	3.534	20	1.278	0.028	2.169
J9	2.816	0.099	3.524	3.524	20	2.621	0.034	1.286	21	1.028	0.016	1.558
J0	2.424	0.059	2.439	2.439	21	2.259	0.057	2.511	22	0.911	0.026	2.886

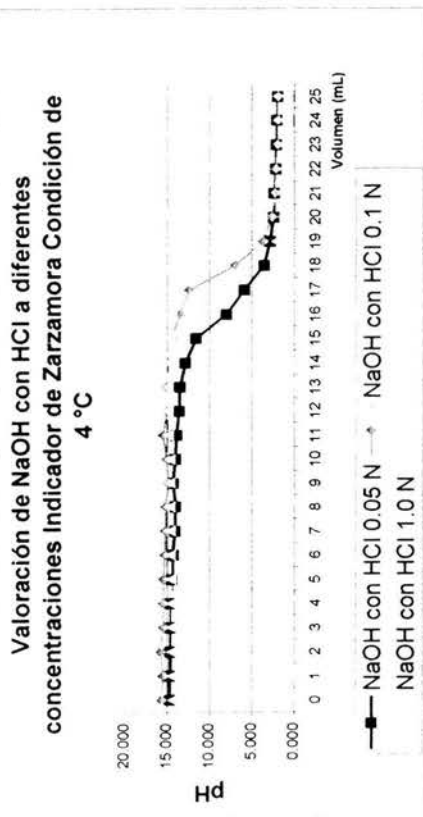


Figura 34. Curva de Valoración de NaOH con HCl a diferentes concentraciones usando Extracto de Zarzamora como indicador almacenado a 4 °C.

Tabla 32. Resultados de Valoraciones de NaOH con HCl usando extracto de Zarzamora como indicador sometido a la condición de 20 °C.

Condición		20 °C									
		0.05 (Eq/L)			0.1 (Eq/L)			1.0 (Eq/L)			
Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
13	13.543	0.388	2.864	14	14.871	0.539	3.622	15	15.265	0.372	2.439
14	12.966	0.447	3.447	15	14.497	0.432	2.980	16	14.925	0.061	0.408
15	11.809	0.369	3.123	16	13.877	0.364	2.622	17	15.117	0.232	1.532
16	7.877	0.148	1.880	17	12.357	0.349	2.822	18	13.888	0.275	1.980
17	6.000	0.145	2.414	18	6.922	0.028	0.398	19	1.853	0.048	2.593
18	3.581	0.082	2.278	19	3.683	0.092	2.503	20	1.404	0.023	1.661
19	2.728	0.050	1.848	20	2.558	0.082	3.217	21	1.208	0.042	3.463
20	2.429	0.063	2.599	21	2.259	0.057	2.511	22	1.074	0.021	1.934

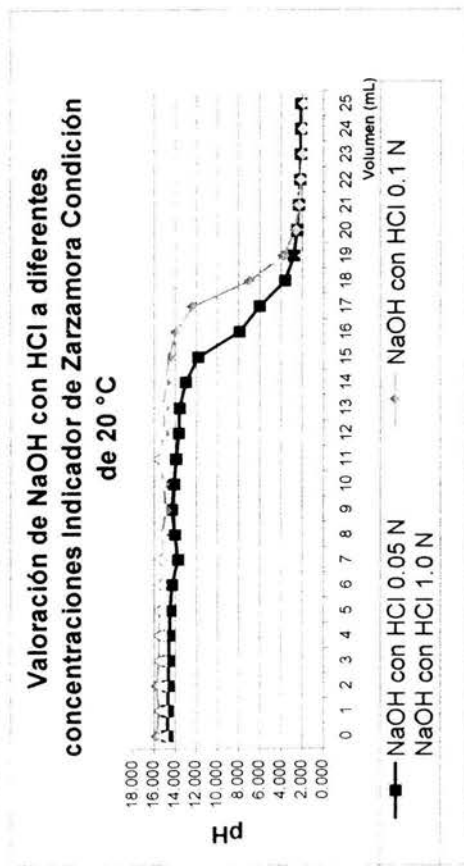


Figura 35. Curva de Valoración de NaOH con HCl a diferentes concentraciones usando Extracto de Zarzamora como indicador almacenado a 20 °C.

Tabla 33. Resultados de Valoraciones de NaOH con HCl usando extracto de Zarzamora como indicador sometido a la condición de 40°C.

Condición	0.05 (Eq/L)					0.1 (Eq/L)					1.0 (Eq/L)				
	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar
1/1	13.677	0.362	2.647	14	14.400	0.326	2.265	15	15.265	0.372	2.439	15	15.265	0.372	2.439
1/2	13.215	0.240	1.815	15	14.178	0.322	2.270	16	14.913	0.033	0.219	16	14.913	0.033	0.219
1/3	12.195	0.317	2.598	16	13.808	0.322	2.330	17	14.739	0.461	3.127	17	14.739	0.461	3.127
1/4	11.052	0.253	2.289	17	12.678	0.375	2.960	18	13.888	0.275	1.980	18	13.888	0.275	1.980
1/5	7.117	0.219	3.075	18	6.111	0.121	1.980	19	1.950	0.077	3.941	19	1.950	0.077	3.941
1/6	5.803	0.106	1.826	19	2.894	0.066	2.267	20	1.471	0.046	3.107	20	1.471	0.046	3.107
1/7	3.970	0.145	3.646	20	2.369	0.087	3.682	21	1.195	0.023	1.925	21	1.195	0.023	1.925
1/8	2.991	0.079	2.638	21	2.123	0.064	3.017	22	1.074	0.021	1.934	22	1.074	0.021	1.934

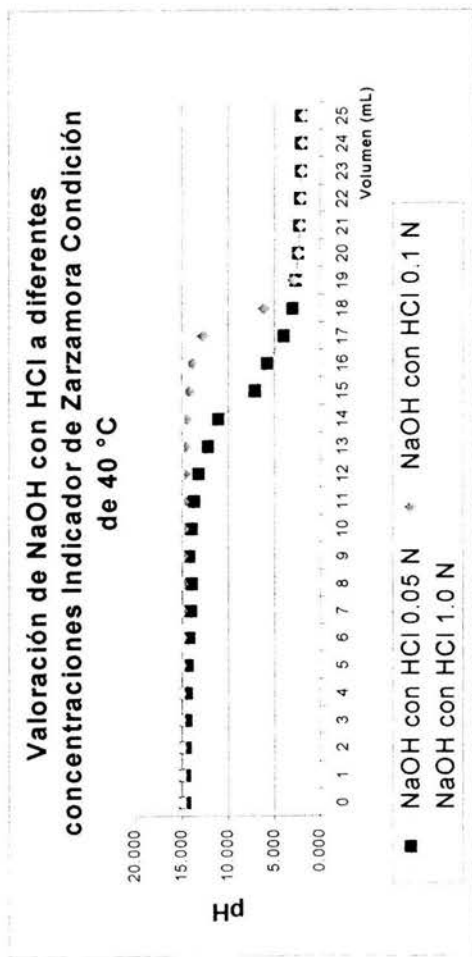


Figura 36. Curva de Valoración de NaOH con HCl a diferentes concentraciones usando Extracto de Zarzamora como indicador almacenado a 40 °C.

Tabla 3-4. Resultados de Valoraciones de HCl con NaOH usando extracto de Zarzamora como indicador sometido a la condición de 4 °C.

Condición	0.05 (Eq/L)					0.1 (Eq/L)					1.0 (Eq/L)					
	Vol (ml)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (ml)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (ml)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (ml)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
	19	2.427	0.054	2.211	18	1.984	0.045	2.269	17	0.840	0.020	2.334				
	20	2.701	0.089	3.294	19	2.243	0.063	2.805	18	0.950	0.022	2.266				
	21	3.208	0.066	2.069	20	2.715	0.074	2.723	19	1.113	0.025	2.271				
	22	4.674	0.105	2.247	21	4.205	0.096	2.281	20	1.459	0.038	2.633				
	23	11.169	0.214	1.918	22	11.118	0.377	3.392	21	10.979	0.253	2.303				
	24	12.984	0.254	1.958	23	13.415	0.306	2.283	22	13.985	0.330	2.362				
	25	13.631	0.287	2.109	24	13.951	0.325	2.331	23	14.251	0.330	2.314				
	26	13.720	0.403	2.940	25	14.256	0.324	2.275	24	14.417	0.329	2.280				

Valoración de HCl con NaOH a diferentes concentraciones Indicador de Zarzamora Condición de 4 °C

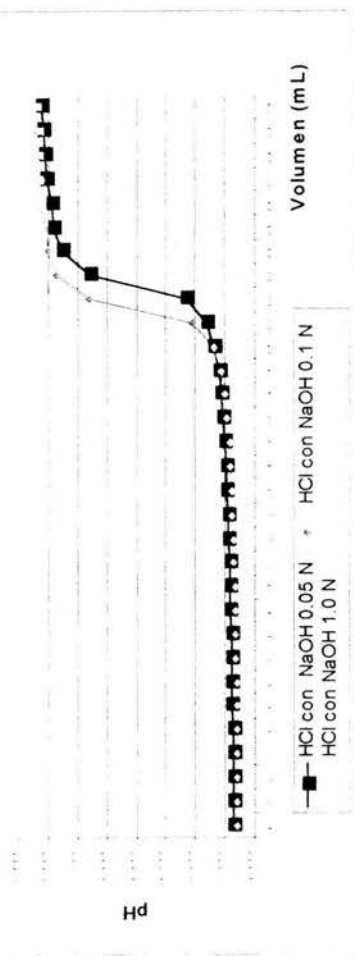


Figura 3-7. Curva de Valoración de HCl con NaOH a diferentes concentraciones usando Extracto de Zarzamora como indicador almacenado a 4 °C.

Tabla 35. Resultados de Valoraciones de HCl con NaOH usando extracto de Zarzamora como indicador sometido a la condición de 20 °C.

Condición		0.05 (Eq/L)					0.1 (Eq/L)					1.0 (Eq/L)				
Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	
19	2.413	0.059	2.439	18	1.984	0.045	2.269	18	0.874	0.023	2.641	18	0.874	0.023	2.641	
20	2.675	0.077	2.861	19	2.335	0.037	1.574	19	1.072	0.035	3.234	19	1.072	0.035	3.234	
21	3.212	0.103	3.218	20	2.715	0.074	2.723	20	1.367	0.038	2.766	20	1.367	0.038	2.766	
22	4.718	0.120	2.541	21	4.128	0.045	1.088	21	5.477	0.209	3.809	21	5.477	0.209	3.809	
23	11.097	0.073	0.661	22	12.703	0.292	2.297	22	14.008	0.378	2.697	22	14.008	0.378	2.697	
24	13.521	0.474	3.507	23	13.117	0.016	0.124	23	14.068	0.348	2.472	23	14.068	0.348	2.472	
25	13.480	0.075	0.553	24	14.110	0.256	1.815	24	14.218	0.355	2.496	24	14.218	0.355	2.496	
26	13.931	0.340	2.439	25	14.256	0.324	2.275	25	14.115	0.067	0.472	25	14.115	0.067	0.472	

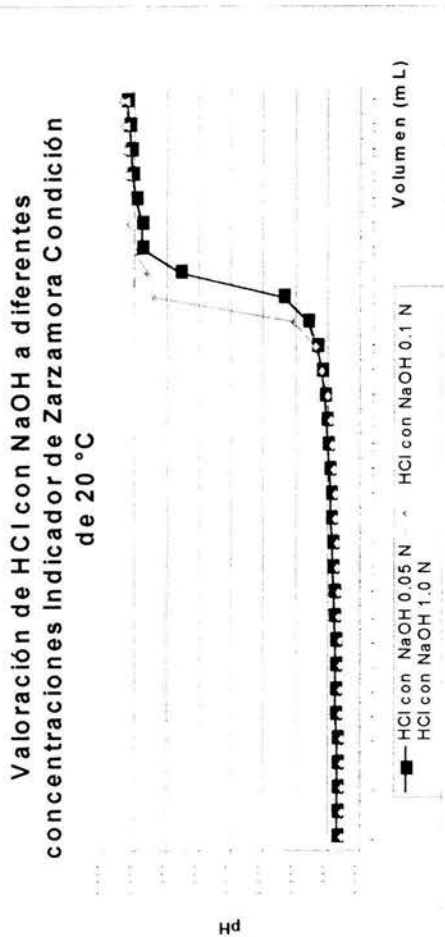


Figura 38. Curva de Valoración de HCl con NaOH a diferentes concentraciones usando Extracto de Zarzamora como indicador almacenado a 20 °C.

Tabla 36. Resultados de Valoraciones de HCl con NaOH usando extracto de Zarzamora como indicador sometido a la condición de 40 °C

Condición	0.05 (Eq/L)					0.1 (Eq/L)					1.0 (Eq/L)					
	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Vol (mL)	pH Medio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
	19	2.433	0.069	2.848	18	1.989	0.043	2.181	17	0.749	0.023	3.082				
	20	2.669	0.087	3.262	19	2.313	0.086	3.728	18	0.869	0.023	2.615				
	21	3.286	0.130	3.970	20	2.708	0.020	0.754	19	1.069	0.024	2.249				
	22	4.702	0.136	2.891	21	4.138	0.069	1.677	20	1.380	0.043	3.081				
	23	11.316	0.302	2.672	22	11.191	0.414	3.697	21	10.393	0.082	0.786				
	24	12.873	0.057	0.441	23	13.503	0.321	2.378	22	13.851	0.405	2.923				
	25	13.660	0.336	2.458	24	14.377	0.473	3.287	23	13.814	0.280	2.024				
	26	13.875	0.387	2.788	25	13.908	0.213	1.532	24	13.703	0.067	0.490				

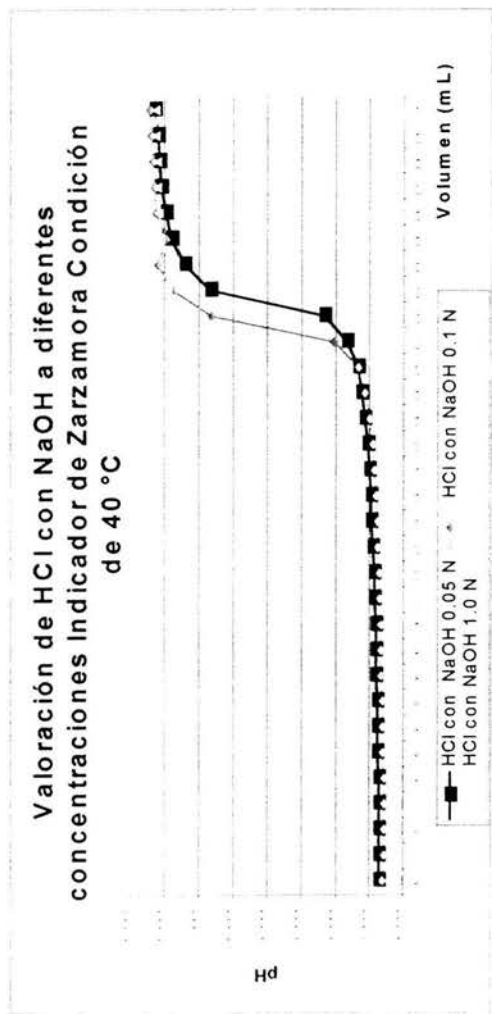


Figura 39. Curva de Valoración de HCl con NaOH a diferentes concentraciones usando Extracto de Zarzamora como indicador almacenado a 40 °C.

Tabla 37. Valores de Volumen gastado para extracto de Zarzamora Valoración de NaOH con HCl

Concentración del Ácido (Eq/L)	4 °C			20 °C			40 °C		
	Volumen Promedio	D.E.*	C.V.**	Volumen Promedio	D.E.*	C.V.**	Volumen Promedio	D.E.*	C.V.**
0.05	14.042	0.434	2.887	12.804	0.587	3.965	13.466	0.430	2.786
0.1	15.833	0.628	3.971	16.625	0.434	2.614	15.412	0.162	0.992
1.0	16.438	0.090	0.490	18.438	0.273	1.483	18.594	0.099	0.536

Tabla 38. Valores de Volumen gastado para extracto de Zarzamora Valoración de HCl con NaOH

Concentración del Ácido (Eq/L)	4 °C			20 °C			40 °C		
	Volumen Promedio	D.E.*	C.V.**	Volumen Promedio	D.E.*	C.V.**	Volumen Promedio	D.E.*	C.V.**
0.05	18.201	0.811	3.219	16.274	0.699	2.880	17.001	0.490	1.960
0.1	23.329	0.481	2.063	23.736	0.411	1.732	23.413	0.398	1.700
1.0	21.577	0.683	3.168	21.533	0.623	2.897	21.555	0.599	2.781

* = Desviación Estándar

** = Coeficiente de Variación

Tabla 39. Valores de Absorbancia obtenidos de la determinación de pKa para Extracto de Zarzamora por el método Espectrofotométrico.

Máximo de Absorbancia a pH Básico:		575.6 nm
Máximo de Absorbancia a pH Acido:		514 nm
pH	Absorbancia (575.6 nm)	Absorbancia (514 nm)
2	0.159	0.96
3	0.13	0.747
4	0.125	0.436
5	0.136	0.35
6	0.174	0.39
7	0.248	0.264
8	0.291	0.237
9	0.461	0.28
10	0.653	0.35
11	0.968	0.39
12	1.06	0.51

Determinación de pKa Zarzamora

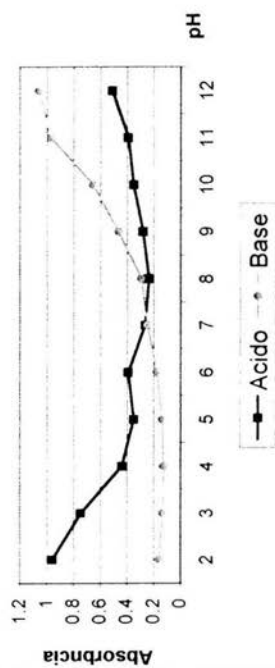


Figura 40. Curva de valores de absorbancia a distintos pH's del extracto de Zarzamora Para determinar el pKa por punto isobéstrico.

1. Vire

Basándonos en los resultados obtenidos y mostrados de las *tablas 31 a 36* y *figuras 34 a 39* podemos decir que para el extracto de Zorzamora tenemos:

a) Análisis Potenciométrico de NaOH con HCl

- Tal como lo demuestran los datos la variabilidad representada por las Desviaciones Estándar es muy baja, ejemplo de ello es que ningún valor pasa de 1 sin embargo nuevamente estos datos se excluyen de los requerimientos de precisión y exactitud, puesto que al determinar los Coeficientes de Variación la gran mayoría está por encima de 2, así como se determinó para Cebolla Morada y Col Morada para el caso de la Zorzamora, la baja calidad de un lote de agua influyó en la obtención de los resultados.
- Las curvas muestran una típica curva sigmoideal que varía de acuerdo a la concentración con la que se trabajó para NaOH y HCl, esto demuestra que este extracto no influye en la forma de las valoraciones para ácido y base fuerte como lo es el Ácido Clorhídrico y el Hidróxido de Sodio a las concentraciones utilizadas en este proyecto.

b) Análisis Potenciométrico de HCl con NaOH

- Así como en las valoraciones de Base con Ácido se obtuvieron las típicas curvas sigmoideas, se logró una adecuada forma para las valoraciones de Ácido fuerte con Base Fuerte a las distintas concentraciones, de tal manera que no se observó una influencia por el extracto adicionado en el comportamiento de estas.
- A pesar del adecuado comportamiento de las curvas los datos demuestran que las valoraciones obtenidas no cumplen con los parámetros de precisión y exactitud puesto que el Coeficiente de Variación en la mayoría de los casos supera el valor de 2.

2. Análisis Visual (volumen gastado).

- Según las *tablas 37 y 38* el volumen gastado observado por el vire o cambio de color del extracto adicionado a las soluciones valoradas coincide precisamente con el punto de equivalencia.
- A pesar de lo anterior el problema de los Valores de Coeficiente de Variación continúan provocando el desapruebo para cumplir con los parámetros de precisión y exactitud del método, puesto que de igual modo se sobrepasó de 2%, sin embargo, esto es constante lo que podría hacernos pensar que es posible atribuir nuevamente este desajuste de las dos últimas determinaciones con respecto a las primeras cuatro, a la baja calidad de los reactivos.

3. Determinación de pKa.

- A diferencia de los otros dos extractos, el de Zarzamora presentó para el pH de 12, máximos de absorbancia a una longitud de onda bastante diferente, esto a 607.6 nm como se denota en la *tabla 39*, aunque es necesario considerar que el extracto presentaba colores distintos a pH básico con respecto a Cebolla y Col Moradas, mientras que las anteriores presentaban un color verde característico, la zarzamora presentaba colores mas entonados con el azul, lo que se demuestra por que es el color transmitido por las soluciones que absorben a esa longitud de onda.
- Otra característica importante de este extracto fue la separación más pronunciada de las curvas en los extremos, principalmente a pH ácido, que a diferencia de los otros extractos de Cebolla y Col Moradas que casi se unían nuevamente, podemos pensar que esta especie no contenía otras especies que a pesar de que no contienen color absorban luz a esa misma longitud de onda.
- Para el punto isobéptico según la *figura 40* el pH donde se cruzan las gráficas corresponde a pH de 7.3, otro rasgo que de igual modo diferencia los componentes de este extracto.

VIII. CONCLUSIONES

Como parte final de esta tesis y manifestando así el resultado de los análisis realizados a estos tres extractos usados como indicadores ácido - base en medio acuoso, se dan las siguientes conclusiones, todas ellas forman parte de la opinión particular de los autores.

1. Se determinó el método más eficaz de extracción, el cual fue en proporción de 1:1 (peso / volumen), usando como solvente el etanol grado reactivo acidificado con ácido tartárico.

2. Las condiciones óptimas de almacenaje fue en frascos de vidrio color ámbar, manteniéndolos a una temperatura de refrigeración de 4°C, conservando sus propiedades de cambio de color a diferentes pH's hasta por más de tres meses.

3. Se determinaron los intervalos de vire de acuerdo a la siguiente tabla para los tres extractos usados como indicadores ácido - base en medio acuoso:

Extracto	Intervalos de vire
<i>Cebolla morada</i>	6 - 9
<i>Col morada</i>	6 - 8
<i>Zarzamora</i>	6 - 9

Tabla 40. Intervalos de vire de pH obtenidos para cada uno de los extractos.

4. Se determinaron los cambios de color de vire de acuerdo a la siguiente tabla para los tres extractos usados como indicadores ácido - base en medio acuoso:







Extracto	Color a pH ácido	Color a pH básico
<i>Cebolla morada</i>	Rosa pálido 	Verde Amarillento 
<i>Col morada</i>	Rosa 	Verde 
<i>Zarzamora</i>	Rojo 	Azul 

Tabla 41. Colores de los distintos extractos a pH básico y pH ácido.

5. Se determino el pKa para cada extracto usado como indicador ácido - base en medio acuoso que se describe en la siguiente tabla:

Extracto	pKa
<i>Cebolla morada</i>	6.45
<i>Col morada</i>	6.88
<i>Zarzamora</i>	7.3

Tabla 42. Valores de pKa obtenidos para cada uno de los extractos.

6. La funcionalidad de estos extractos para ser usados como indicador ácido - base en medio acuoso es aceptable debido a que las antocianinas que contienen estos vegetales en las vacuolas de sus células, presentan distintas coloraciones a diferentes pH's y que al extraerlos estos pueden funcionar como indicadores de pH para una valoración de Ácido fuerte con Base fuerte en un Laboratorio químico de analítica.

IX. SUGERENCIAS

Cuando en un estudio se involucran productos de origen natural es inminente la variabilidad biológica de estos, lo cual implica llevar a cabo una investigación alterna en la que se busque encontrar las características de interés para la investigación, esto es determinar cuál es la especie o lote que mejor cumpla con las necesidades del proyecto establecido.

Para el caso de nuestro estudio, es necesario considerar los siguientes aspectos para una investigación posterior a la presente:

1. Estudio etnomérico, para determinar la región de cultivo y temporada de cosecha más adecuada para cada uno de los vegetales empleados, de tal forma que estos cumplan de manera más adecuada con los requerimientos para su estudio.
2. Ya que se ha desarrollado una técnica de extracción, es necesario llevar a cabo la validación de este método.
3. Determinar la funcionalidad de estos extractos como indicadores para ácidos dipróticos y polipróticos así como para dibases y polibases.
4. Determinar la funcionalidad de estos extractos como indicadores para los diferentes tipos de valoraciones existentes.
5. Posible Liofilización del extracto.
6. Estudio general de costo. Su venta al mercado, como alternativa de uso de los indicadores comerciales.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Douglas A. Skoog, Donald M. West, F. James Holler, Stanley R. Crouch. Química analítica. 7ª edición, México: McGRAW-HILL:2001.p 259-263,271-273,278-283,571-577.
2. R. A. Day, Jr, A. L. Underwood. Química Analítica Cuantitativa, 5ª edición, México: Pearson Educación;2000. p 168-171,179-182,459-461,466-469,487-489.
3. Charles E. Mortimer. Química. 7ª edición, México: Grupo Editorial Iberoamérica;1999. p 304-305.
4. Kennet A. Connors. Curso de Análisis Farmacéutico. España: Editorial Reverte, S.A.:1981.p195-198.
5. Universidad de Granada, Facultad de Ciencias (14 de Octubre de 2001). *Determinación del pKa de un Indicador Mediante Espectrofotometría* [En línea]. Granada España. Disponible en:
<http://www.ugr.es/~qm/fisica/espanol/Qfciencias/Docencia/Ficheros/Practicas/Pract12.PDF>. [Google, 2003, 13 de marzo].
6. Universidad de Granada, Facultad de Ciencias (20 de Octubre de 2001). *Determinación del pKa por Medidas de Conductividad Electrolítica*, [En línea]. Granada España. Disponible en:
<http://www.ugr.es/~qm/fisica/espanol/Qfciencias/Docencia/Ficheros/Practicas/Pract10.PDF>. [Google, 2003, 13 de marzo].
7. C. W. Keenan, D. C. Kleinfelter, J. H. Wood. Química General Universitaria, 3ª edición, México: Compañía Editorial Continental S.A. de C.V; 1992. p 349-365.
8. Enciclopedia Encarta 2001 Edición Básica® (CD-ROM). Microsoft Corporation.
9. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 7ª Edición. Secretaría De Salud, México: 1998. p 332 – 333.
10. D.A. Skoog, F.J. Holler, T.A. Nieman. Principios de Análisis Instrumental, 5ª edición, Madrid, España: Mc Graw Hill; 2001. P 639 – 642.
11. D. W. Mayo, R. M. Pike, P. K. Trumper. Microscale Organic Laboratory. 3 rd Edition., New York, U.S.A.: John Wiley & Sons; 1994. p. 73.
12. J. A. Dean. Analytical Chemistry Handbook, U.S.A.: Mc Graw – Hill; 1995. p 2.17 – 2.19.
13. C. F. Wilcox Jr., M. F. Wilcox. Experimental Organic Chemistry a Small-Scale Approach, U.S.A. Prentice – Hall; 1995. p 103.
14. L. G. Hargis. Analytical Chemistry Principles and Techniques, New Jersey, U.S.A. Prentice – Hall; 1988. 482 – 483.
15. F. B. Salisbury, C. W. Ross. Fisiología Vegetal, México: Grupo Editorial Iberoamérica; 1994. p 356 - 358.

16. A. Fahn, F. Anatomía Vegetal, Madrid, España: Pirámide; 1985. p 24 - 25.
17. W. G. Hopkins. Introduction to Plant Physiology, New York, U.S.A.: John Wiley & Sons; 1995. p 141 - 143.
18. C. V. Córdoba. Fisiología Vegetal, Madrid, España: H Blume Ediciones; 1989. p 408-411.
19. J. B. Harborne, H. Baxter. The Handbook of Flavonoids. Vol: 2, Chichester, England: John Wiley & Sons; 1999. p 3 - 5.
20. J. Bruneton. Elementos de Fitoquímica y Farmacognosía, Zaragoza, España: Acribia, S.A.; 1991. p 172 - 176.
21. M. Stuart. Enciclopedia de Hierbas y Herboristería, Barcelona, España: Ediciones Omega; 1981.p. 148, 191, 192, 248, 255.

Bibliografía Complementaria

1. Domínguez A. E. "Antocianinas y colores Vegetales". *Educación química*, 2, 1; 96 - 97; Abril 1990.
2. Obaya V. A., García B. R., Mena G. M. "Indicadores de pH obtenidos de flores y hortalizas". *Educación química*, 10, 1; 54 - 56; Enero - Febrero 1999.
3. Patterson G.S. "A simplified Method for Finding the pKa of an Acid - Base Indicator by Spectrophotometry". *Journal of Chemical Education*, 76, 3; 395 - 398; March 1999.
4. Silva R. C., Pereira B. R., Sabadini E. "Color Changes in Indicator Solutions, An Intriguing and Elucidative General Chemistry Experiment". *Journal of Chemical Education*, 78, 7; 939 - 940; July 2001.

XI. ANEXO**A. Índice de Tablas**

	Pag.
Tabla 1. Algunos Indicadores Ácido-Base importantes	4
Tabla 2. Valores de equivalencia de las distintas unidades de medición de longitud	5
Tabla 3. Regiones del espectro Ultra Violeta / Visible e Infrarrojo	6
Tabla 4. Teoría Ácido- Base de Arrhenius	9
Tabla 5. Teoría Ácido- Base de Brønsted Lowry	9
Tabla 6. Teoría Ácido- Base de Lewis	10
Tabla 7. Clasificación de los Ácidos y Bases	12
Tabla 8. Sistema de electrodos para titulaciones potenciométricas	14
Tabla 9. Color que presentan cada uno de los pigmentos en los distintos vegetales.	20
Tabla 10. Generalidades de la Cebolla Morada	31
Tabla 11. Generalidades de la Col Morada	32
Tabla 12. Generalidades de la Zarzamora	33
Tabla 13. Resultados de Valoraciones de NaOH con HCl usando extracto de Cebolla morada como indicador sometido a la condición de 4 °C.	45
Tabla 14. Resultados de Valoraciones de NaOH con HCl usando extracto de Cebolla morada como indicador sometido a la condición de 20 °C	46
Tabla 15. Resultados de Valoraciones de NaOH con HCl usando extracto de Cebolla morada como indicador sometido a la condición de 40 °C	47
Tabla 16. Resultados de Valoraciones de HCl con NaOH usando extracto de Cebolla morada como indicador sometido a la condición de 4 °C	48
Tabla 17. Resultados de Valoraciones de HCl con NaOH usando extracto de Cebolla morada como indicador sometido a la condición de 20 °C	49
Tabla 18. Resultados de Valoraciones de HCl con NaOH usando extracto de Cebolla morada como indicador sometido a la condición de 40 °C	50
Tabla 19. Valores de Volumen gastado para extracto de Cebolla Morada Valoración de NaOH con HCl	51
Tabla 20. Valores de Volumen gastado para extracto de Cebolla Morada Valoración de HCl con NaOH	51
Tabla 21. Valores de Absorbancia obtenidos de la determinación de pKa para Extracto de Cebolla Morada por el método Espectrofotométrico	52
Tabla 22. Resultados de Valoraciones de NaOH con HCl usando extracto de Col morada como indicador sometido a la condición de 4 °C	55
Tabla 23. Resultados de Valoraciones de NaOH con HCl usando extracto de Col morada como indicador sometido a la condición de 20 °C	56
Tabla 24. Resultados de Valoraciones de NaOH con HCl usando extracto de Col morada como indicador sometido a la condición de 40 °C	57
Tabla 25. Resultados de Valoraciones de HCl con NaOH usando extracto de Col morada como indicador sometido a la condición de 4 °C	58
Tabla 26. Resultados de Valoraciones de HCl con NaOH usando extracto de Col morada como indicador sometido a la condición de 20 °C	59
Tabla 27. Resultados de Valoraciones de HCl con NaOH usando extracto de Col morada como indicador sometido a la condición de 40 °C	60
Tabla 28. Valores de Volumen gastado para extracto de Col morada Valoración de NaOH con HCl	61
Tabla 29. Valores de Volumen gastado para extracto de Col morada Valoración de HCl con NaOH	61
Tabla 30. Valores de Absorbancia obtenidos de la determinación de pKa para Extracto de Col morada por el método Espectrofotométrico	62

Tabla 31. Resultados de Valoraciones de NaOH con HCl usando extracto de Zarzamora como indicador sometido a la condición de 4 °C	65
Tabla 32. Resultados de Valoraciones de NaOH con HCl usando extracto de Zarzamora como indicador sometido a la condición de 20 °C	66
Tabla 33. Resultados de Valoraciones de NaOH con HCl usando extracto de Zarzamora como indicador sometido a la condición de 40 °C	67
Tabla 34. Resultados de Valoraciones de HCl con NaOH usando extracto de Zarzamora como indicador sometido a la condición de 4 °C	68
Tabla 35. Resultados de Valoraciones de HCl con NaOH usando extracto de Zarzamora como indicador sometido a la condición de 20 °C	69
Tabla 36. Resultados de Valoraciones de HCl con NaOH usando extracto de Zarzamora como indicador sometido a la condición de 40 °C	70
Tabla 37. Valores de Volumen gastado para extracto de Zarzamora Valoración de NaOH con HCl	71
Tabla 38. Valores de Volumen gastado para extracto de Zarzamora Valoración de HCl con NaOH	71
Tabla 39. Valores de Absorbancia obtenidos de la determinación de pKa para Extracto de Zarzamora por el método Espectrofotométrico	72
Tabla 40. Intervalos de vire de pH obtenidos para cada uno de los extractos	75
Tabla 41. Colores de los distintos extractos a pH básico y pH ácido	75
Tabla 42. Valores de pKa obtenidos para cada uno de los extractos	75
Tabla 43. Datos de pH originales para las figuras 17 a 19 de los resultados de valoración de Hidróxido de Sodio con Ácido Clorhídrico a distintas concentraciones para el extracto señalado	83
Tabla 44. Datos de pH originales para las figuras 20 a 22 de los resultados de valoración de Ácido Clorhídrico con Hidróxido de Sodio a distintas concentraciones, para el extracto señalado	84
Tabla 45. Datos de pH originales para las figuras 24 a 26 de los resultados de valoración de Hidróxido de Sodio con Ácido Clorhídrico a distintas concentraciones para el extracto señalado	85
Tabla 46. Datos de pH originales para las figuras 27 a 29 de los resultados de valoración de Ácido Clorhídrico con Hidróxido de Sodio a distintas concentraciones, para el extracto señalado	86
Tabla 47. Datos de pH originales para las figuras 31 a 33 de los resultados de valoración de Hidróxido de Sodio con Ácido Clorhídrico a distintas concentraciones para el extracto señalado	87
Tabla 48. Datos de pH originales para las figuras 34 a 36 de los resultados de valoración de Ácido Clorhídrico con Hidróxido de Sodio a distintas concentraciones, para el extracto señalado	88

B. Índice de Figuras

Figura 1. Equilibrio ácido Base de la molécula de p-nitofenol	Pág. 1
Figura 2. Representación gráfica de la Longitud de Onda	5
Figura 3. Curva Sigmoidal	15
Figura 4. Curva de Segmento Lineal	15
Figura 5. Estructura básica de los Flavonoides	22
Figura 6. Equilibrio isomérico de una flavonona con una Calcona, producto de la reacción de catalización del complejo denominado calcona-flavonona sintetasa	22
Figura 7. Flavonona con inclusión de un protón en el heterociclo, dicho protón se	23

encuentra encerrado en un círculo discontinuo	
Figura 8. Oxidación de la flavonona en el carbono 3 heterociclo	23
Figura 9. Conversión de flavonona en hidroflavonol a través de un intermediario epóxico	24
Figura 10. Deshidrogenación del dihidroflavonol en los carbonos 2 y3 para formar flavonol	24
Figura 11. Síntesis de antocianinas por deshidratación del dihidroflavonol	25
Figura 12. Metilación enzimática por metiltransferasa en la posición del carbono 3' señalada en el círculo en línea discontinua	25
Figura 13. El anillo básico de antocianina, mostrando variaciones en el anillo B debidas a hidroxilación y metilación para formar diversas antocianinas	26
Figura 14. Las antocianinas se producen por la unión de azúcares (glicosilación) a la posición 3-hidroxilo de la antocianidina, y en ocasiones también a la posición 5 o 7	27
Figura 15. Estructura de la Pelargonidina oxidada al catión Flavilium	28
Figura 16. Estabilidad del catión Flavilio en función del pH y los productos formados de esta degradación	29
Figura 17. Ilustración de la Cebolla Morada	31
Figura 18. Ilustración de Col Morada	32
Figura 19. Ilustración de Zorzamora	33
Figura 20. Curva de Valoración de NaOH con HCl a diferentes concentraciones usando Extracto de cebolla morada como indicador almacenado a 4 °C.	45
Figura 21. Curva de Valoración de NaOH con HCl a diferentes concentraciones usando Extracto de cebolla morada como indicador almacenado a 20 °C	46
Figura 22. Curva de Valoración de NaOH con HCl a diferentes concentraciones usando Extracto de cebolla morada como indicador almacenado a 40 °C	47
Figura 23. Curva de Valoración de HCl con NaOH a diferentes concentraciones usando Extracto de cebolla morada como indicador almacenado a 4 °C	48
Figura 24. Curva de Valoración de HCl con NaOH a diferentes concentraciones usando Extracto de cebolla morada como indicador almacenado a 20 °C	49
Figura 25. Curva de Valoración de HCl con NaOH a diferentes concentraciones usando Extracto de cebolla morada como indicador almacenado a 40 °C	50
Figura 26. Curva de valores de absorbancia a distintos pH's del extracto de Cebolla Morada Para determinar el pKa por punto isobstético	52
Figura 27. Curva de Valoración de NaOH con HCl a diferentes concentraciones usando Extracto de Col Morada como indicador almacenado a 4 °C	55
Figura 28. Curva de Valoración de NaOH con HCl a diferentes concentraciones usando Extracto de Col Morada como indicador almacenado a 20 °C	56
Figura 29. Curva de Valoración de NaOH con HCl a diferentes concentraciones usando Extracto de Col Morada como indicador almacenado a 40 °C	57
Figura 30. Curva de Valoración de HCl con NaOH a diferentes concentraciones usando Extracto de Col Morada como indicador almacenado a 4 °C	58
Figura 31. Curva de Valoración de HCl con NaOH a diferentes concentraciones usando Extracto de Col Morada como indicador almacenado a 20 °C	59
Figura 32. Curva de Valoración de HCl con NaOH a diferentes concentraciones usando Extracto de Col Morada como indicador almacenado a 40 °C	60
Figura 33. Curva de valores de absorbancia a distintos pH's del extracto de Col Morada Para determinar el pKa por punto isobstético	62
Figura 34. Curva de Valoración de NaOH con HCl a diferentes concentraciones usando Extracto de Zorzamora como indicador almacenado a 4 °C	65
	66

Figura 35. Curva de Valoración de NaOH con HCl a diferentes concentraciones usando Extracto de Zaramora como indicador almacenado a 20 °C	
Figura 36. Curva de Valoración de NaOH con HCl a diferentes concentraciones usando Extracto de Zaramora como indicador almacenado a 40 °C	67
Figura 37. Curva de Valoración de HCl con NaOH a diferentes concentraciones usando Extracto de Zaramora como indicador almacenado a 4 °C	69
Figura 38. Curva de Valoración de HCl con NaOH a diferentes concentraciones usando Extracto de Zaramora como indicador almacenado a 20 °C	69
Figura 39. Curva de Valoración de HCl con NaOH a diferentes concentraciones usando Extracto de Zaramora como indicador almacenado a 40 °C	70
Figura 40. Curva de valores de absorbancia a distintos pH ´s del extracto de Zaramora Para determinar el pKa por punto isobéptico	72

XII. Valores de pH de cada punto de las curvas de pH versus volumen de las figuras 20 a la 39.

Tabla 43. Datos de pH originales para las figuras 20 a 22 de los resultados de valoración de Hidróxido de Sodio con Ácido Clorhídrico a distintas concentraciones para el extracto señalado.

Volumen (mL)	Cebolla Morada								
	4 °C			20 °C			40 °C		
	0.05 N	0.1 N	1.0 N	0.05 N	0.1 N	1.0 N	0.05 N	0.1 N	1.0 N
0	14.375	14.572	13.957	14.325	14.520	13.903	14.303	14.558	13.915
1	14.365	14.570	14.022	14.305	14.592	13.962	14.288	14.495	13.973
2	14.325	14.554	14.060	14.28	14.588	14.007	14.250	14.570	14.033
3	14.285	14.528	14.095	14.23	14.576	14.045	14.180	14.554	14.073
4	14.207	14.498	14.127	14.142	14.552	14.075	14.118	14.534	14.108
5	14.117	14.452	14.157	14.07	14.506	14.108	14.035	14.490	14.135
6	14.035	14.408	14.182	13.955	14.464	14.133	13.903	14.440	14.165
7	13.902	14.348	14.197	13.827	14.394	14.157	13.695	14.386	14.190
8	13.76	14.274	14.207	13.66	14.326	14.172	13.465	14.314	14.203
9	13.577	14.180	14.213	13.552	14.240	14.185	13.095	14.240	14.212
10	13.295	14.060	14.213	12.870	14.140	14.192	12.578	14.140	14.225
11	13.298	13.902	14.208	12.195	13.996	14.187	11.513	14.012	14.230
12	12.695	13.652	14.197	11.023	13.798	14.177	10.768	13.840	14.228
13	12.150	13.168	14.155	9.795	13.482	14.162	9.583	13.560	14.217
14	10.785	11.640	14.088	6.325	12.718	14.120	6.283	12.974	14.190
15	6.197	8.756	13.970	4.912	10.616	14.055	5.247	11.470	14.135
16	4.450	4.618	13.312	4.213	5.596	13.907	3.720	6.194	14.038
17	3.585	2.648	7.652	3.418	3.358	13.205	3.170	3.270	13.887
18	2.635	2.386	1.760	2.67	2.656	5.675	2.530	2.804	13.023
19	2.512	2.152	1.240	2.417	2.092	1.612	2.485	2.510	2.390
20	2.317	1.878	1.120	2.25	1.924	1.290	2.298	1.928	1.353
21	2.182	1.794	1.008	2.155	1.844	1.123	2.188	1.824	1.092
22	2.092	1.740	0.887	2.082	1.776	1.032	2.108	1.764	1.173
23	2.037	1.696	0.828	2.032	1.730	0.847	2.055	1.710	0.915
24	1.995	1.596	0.807	1.997	1.690	0.797	2.013	1.690	0.840
25	1.983	1.587	0.802	1.98	1.668	0.610	1.978	1.667	0.746

Tabla 44. Datos de pH originales para las figuras 23 a 25 de los resultados de valoración de Ácido Clorhídrico con Hidróxido de Sodio a distintas concentraciones, para el extracto señalado.

Volumen (mL)	Cebolla Morada								
	4 °C			20 °C			40 °C		
	0.05 N	0.1 N	1.0 N	0.05 N	0.1 N	1.0 N	0.05 N	0.1 N	1.0 N
0	1.22	1.063	0.325	1.635	1.105	0.328	1.336	1.167	0.386
1	1.24	1.063	0.310	1.615	1.1	0.32	1.336	1.16	0.373
2	1.26	1.063	0.305	1.635	1.107	0.316	1.336	1.15	0.356
3	1.3	1.077	0.295	1.635	1.112	0.32	1.377	1.152	0.356
4	1.32	1.090	0.280	1.665	1.122	0.308	1.407	1.157	0.348
5	1.36	1.103	0.280	1.685	1.142	0.452	1.438	1.17	0.358
6	1.4	1.127	0.285	1.715	1.157	0.324	1.479	1.18	0.358
7	1.44	1.143	0.285	1.745	1.177	0.324	1.519	1.192	0.358
8	1.49	1.180	0.300	1.785	1.21	0.332	1.581	1.225	0.37
9	1.55	1.207	0.315	1.825	1.237	0.34	1.632	1.25	0.38
10	1.61	1.240	0.320	1.885	1.272	0.348	1.703	1.28	0.39
11	1.69	1.277	0.343	1.956	1.31	0.376	1.785	1.31	0.411
12	1.78	1.323	0.368	2.056	1.347	0.4	1.897	1.345	0.433
13	1.92	1.367	0.398	2.253	1.395	0.356	2.04	1.39	0.458
14	2.08	1.417	0.430	2.454	1.445	0.476	2.173	1.432	0.493
15	2.28	1.487	0.478	3.126	1.517	0.52	2.330	1.502	0.538
16	2.645	1.567	0.528	4.533	1.585	0.57	2.847	1.56	0.595
17	3.39	1.663	0.605	10.722	1.672	0.644	3.763	1.637	0.665
18	5.485	1.797	0.673	12.596	1.787	0.822	11.485	1.737	0.742
19	12.17	1.967	0.880	13.533	1.93	0.992	13.117	1.855	1.157
20	12.565	2.207	1.230	13.643	2.400	1.292	13.423	2.050	1.172
21	13.345	2.797	2.160	13.736	2.480	2.604	13.603	2.360	2.048
22	13.53	5.590	13.015	13.601	2.958	13.268	13.739	2.828	13.115
23	13.51	11.170	13.373	13.682	4.428	13.562	13.821	4.225	13.570
24	13.59	13.110	13.510	13.742	12.273	13.688	13.892	11.770	13.728
25	13.65	13.583	13.650	13.802	13.245	13.798	13.943	13.023	13.818
26	13.46	13.787	13.823	13.762	13.550	13.986	13.953	13.360	14.065
27	13.605	13.920	13.863	13.902	13.720	14.022	13.963	13.543	14.115
28	13.695	14.020	14.025	14.003	13.837	14.056	13.984	13.67	14.141
29	13.755	14.100	13.918	14.073	13.917	14.082	13.994	13.7525	14.165
30	13.805	14.167	13.938	14.143	13.98	14.102	14.045	13.815	14.195

Tabla 45. Datos de pH originales para las figuras 27 a 29 de los resultados de valoración de Hidróxido de Sodio con Ácido Clorhídrico a distintas concentraciones para el extracto señalado.

Volumen (mL)	Col Morada								
	4 °C			20 °C			40 °C		
	0.05 N	0.1 N	1.0 N	0.05 N	0.1 N	1.0 N	0.05 N	0.1 N	1.0 N
0	14.405	15.462	14.183	14.450	15.357	14.915	14.415	14.938	14.923
1	14.4	15.188	14.117	14.445	15.090	14.967	14.410	14.883	14.973
2	14.361	15.275	14.157	14.402	15.182	14.957	14.372	14.883	14.963
3	14.315	15.167	14.200	14.345	15.077	15.010	14.315	14.877	15.018
4	14.236	15.155	14.250	14.272	15.070	15.042	14.237	14.870	15.052
5	14.135	15.133	14.317	14.175	15.052	15.192	14.135	14.843	15.198
6	14.011	15.058	14.292	14.037	14.982	15.083	13.987	14.797	15.093
7	13.825	15.008	14.333	13.607	14.932	15.100	13.795	14.770	15.108
8	13.73	14.958	14.417	13.760	14.885	15.130	13.675	14.723	15.138
9	14.036	14.800	14.423	14.065	14.728	15.118	13.977	14.677	15.127
10	13.733	14.825	14.390	13.773	14.753	15.242	13.628	14.617	15.250
11	13.531	14.917	14.383	13.587	14.848	15.192	13.367	14.547	15.200
12	13.341	14.683	14.407	13.407	14.615	15.242	12.992	14.453	15.250
13	13.303	14.617	14.408	13.302	14.547	15.242	12.060	14.340	15.250
14	12.586	14.467	14.313	12.717	14.392	15.242	10.853	14.193	15.253
15	11.428	14.172	14.348	11.618	14.092	15.075	6.915	13.967	15.088
16	7.803	13.552	14.342	7.753	13.643	14.950	5.677	13.580	14.967
17	5.828	12.162	14.208	5.833	12.213	14.808	3.867	12.397	14.832
18	3.635	6.828	13.483	3.517	6.823	13.833	2.928	6.110	13.945
19	2.748	3.597	2.130	2.680	3.612	1.833	2.538	2.853	1.930
20	2.41	2.533	1.258	2.385	2.523	1.408	2.340	2.345	1.488
21	2.23	2.218	1.027	2.235	2.212	1.193	2.190	2.093	1.210
22	2.14	2.058	0.892	2.160	2.040	1.053	2.125	1.973	1.067
23	2.075	1.940	0.792	2.098	1.927	0.977	2.063	1.887	0.988
24	2.041	1.892	0.713	2.062	1.878	0.925	2.032	1.843	0.933
25	1.966	1.850	0.645	2.023	1.838	0.892	1.993	1.793	0.893

Tabla 46. Datos de pH originales para las figuras 30 a 32 de los resultados de valoración de Ácido Clorhídrico con Hidróxido de Sodio a distintas concentraciones, para el extracto señalado.

Volumen (mL)	Col Morada								
	4 °C			20 °C			40 °C		
	0.05 N	0.1 N	1.0 N	0.05 N	0.1 N	1.0 N	0.05 N	0.1 N	1.0 N
0	1.425	1.167	0.455	1.430	1.153	0.437	1.420	1.178	0.322
1	1.422	1.142	0.433	1.423	1.132	0.423	1.417	1.157	0.323
2	1.427	1.143	0.432	1.428	1.133	0.403	1.422	1.158	0.322
3	1.433	1.145	0.435	1.433	1.138	0.397	1.430	1.160	0.317
4	1.438	1.147	0.436	1.442	1.145	0.395	1.438	1.162	0.323
5	1.473	1.183	0.428	1.473	1.178	0.399	1.470	1.195	0.337
6	1.495	1.203	0.460	1.497	1.198	0.398	1.493	1.212	0.342
7	1.527	1.233	0.455	1.528	1.228	0.401	1.525	1.243	0.365
8	1.543	1.262	0.462	1.548	1.257	0.418	1.545	1.268	0.373
9	1.582	1.293	0.503	1.587	1.290	0.433	1.582	1.302	0.387
10	1.625	1.330	0.525	1.630	1.325	0.458	1.627	1.337	0.407
11	1.665	1.365	0.543	1.670	1.360	0.478	1.667	1.370	0.435
12	1.717	1.403	0.572	1.725	1.402	0.503	1.722	1.408	0.457
13	1.783	1.470	0.603	1.792	1.463	0.542	1.788	1.473	0.493
14	1.820	1.525	0.642	1.830	1.518	0.573	1.825	1.527	0.525
15	1.883	1.595	0.692	1.897	1.587	0.623	1.890	1.595	0.572
16	1.958	1.683	0.742	1.972	1.675	0.683	1.968	1.682	0.652
17	2.092	1.808	0.825	2.103	1.798	0.758	2.103	1.805	0.710
18	2.200	1.948	0.933	2.213	1.937	0.863	2.217	1.942	0.848
19	2.392	2.203	1.093	2.402	2.188	1.042	2.415	2.197	0.998
20	2.635	2.667	1.433	2.643	2.642	1.347	2.660	2.643	1.353
21	3.203	4.130	10.782	3.208	4.092	5.347	3.207	4.110	10.843
22	4.650	10.917	13.733	4.627	12.472	13.530	4.693	10.902	13.462
23	11.067	13.175	13.995	11.170	13.242	13.810	11.083	13.258	13.667
24	12.742	13.700	14.158	12.790	13.727	13.953	12.697	13.742	13.768
25	13.433	14.000	14.235	13.457	14.015	14.073	13.403	14.028	13.890
26	13.700	14.150	14.305	13.717	14.162	14.127	13.682	14.173	13.960
27	13.733	14.250	14.342	13.747	14.258	14.167	13.722	14.268	14.020
28	13.967	14.332	14.332	13.977	14.337	14.200	13.957	14.348	14.063
29	14.075	14.387	14.357	14.082	14.392	14.220	14.065	14.403	14.087
30	14.175	14.482	14.468	14.182	14.485	14.240	14.168	14.495	14.123

Tabla 47. Datos de pH originales para las figuras 34 a 36 de los resultados de valoración de Hidróxido de Sodio con Ácido Clorhídrico a distintas concentraciones para el extracto señalado.

Volumen (mL)	Zarzamora								
	4 °C			20 °C			40 °C		
	0.05 N	0.1 N	1.0 N	0.05 N	0.1 N	1.0 N	0.05 N	0.1 N	1.0 N
0	14.670	15.706	14.318	14.717	15.706	15.136	14.681	15.060	15.136
1	14.665	15.463	14.369	14.712	15.463	15.173	14.676	15.077	15.173
2	14.626	15.732	14.409	14.668	15.732	15.214	14.637	15.077	15.214
3	14.579	15.438	14.450	14.610	15.438	15.255	14.579	15.073	15.255
4	14.500	15.443	14.481	14.536	15.443	15.285	14.500	15.070	15.285
5	14.397	15.418	14.521	14.438	15.418	15.326	14.397	15.041	15.326
6	14.273	15.268	14.542	14.299	15.268	15.336	14.247	14.992	15.336
7	14.084	15.197	14.572	13.728	15.197	15.367	14.053	14.968	15.367
8	13.988	15.167	14.583	14.019	15.167	15.400	13.931	14.924	15.400
9	14.288	14.801	14.593	14.294	14.801	15.387	14.226	14.880	15.387
10	14.021	15.003	14.593	14.062	15.003	15.387	13.912	14.819	15.387
11	13.848	15.475	14.758	13.905	15.475	15.387	13.677	14.753	15.387
12	13.577	14.959	14.830	13.644	14.959	15.387	13.215	14.660	15.387
13	13.461	15.003	14.836	13.543	15.003	15.367	12.195	14.546	15.367
14	12.831	14.681	14.541	12.966	14.871	15.326	11.052	14.400	15.326
15	11.587	14.497	14.754	11.809	14.497	15.265	7.117	14.178	15.265
16	7.970	13.412	14.405	7.877	13.877	14.925	5.803	13.808	14.913
17	5.848	12.357	14.382	6.000	12.357	15.117	3.970	12.678	14.739
18	3.523	6.908	13.717	3.581	6.922	13.888	2.991	6.111	13.888
19	2.816	3.646	2.104	2.728	3.683	1.853	2.618	2.894	1.950
20	2.424	2.621	1.278	2.429	2.558	1.404	2.382	2.369	1.471
21	2.313	2.259	1.028	2.276	2.259	1.208	2.230	2.123	1.195
22	2.159	2.134	0.911	2.180	2.134	1.074	2.143	1.992	1.074
23	2.088	1.976	0.810	2.105	1.976	0.998	2.069	1.907	0.998
24	2.057	1.930	0.713	2.078	1.930	0.937	2.047	1.865	0.937
25	1.975	1.905	0.646	2.059	1.905	0.906	2.028	1.814	0.906

Tabla 48. Datos de pH originales para las figuras 37 a 39 de los resultados de valoración de Ácido Clorhídrico con Hidróxido de Sodio a distintas concentraciones, para el extracto señalado.

Volumen (mL)	Zarzamora								
	4 °C			20 °C			40 °C		
	0.05 N	0.1 N	1.0 N	0.05 N	0.1 N	1.0 N	0.05 N	0.1 N	1.0 N
0	1.446	1.188	0.463	1.446	1.188	0.446	1.456	1.196	0.331
1	1.446	1.163	0.441	1.446	1.163	0.429	1.456	1.170	0.335
2	1.446	1.164	0.440	1.446	1.164	0.409	1.456	1.172	0.331
3	1.456	1.166	0.443	1.456	1.166	0.406	1.466	1.174	0.321
4	1.456	1.168	0.444	1.456	1.168	0.406	1.466	1.175	0.333
5	1.497	1.205	0.436	1.497	1.205	0.406	1.507	1.213	0.342
6	1.517	1.225	0.468	1.517	1.225	0.407	1.527	1.233	0.353
7	1.548	1.256	0.463	1.548	1.256	0.407	1.558	1.264	0.369
8	1.568	1.285	0.470	1.568	1.285	0.428	1.579	1.293	0.386
9	1.609	1.317	0.513	1.609	1.317	0.445	1.620	1.325	0.393
10	1.650	1.354	0.535	1.650	1.354	0.468	1.661	1.363	0.413
11	1.690	1.390	0.553	1.690	1.390	0.489	1.702	1.399	0.441
12	1.731	1.429	0.582	1.731	1.429	0.511	1.743	1.438	0.465
13	1.792	1.497	0.614	1.792	1.497	0.550	1.804	1.507	0.499
14	1.853	1.553	0.653	1.853	1.553	0.582	1.866	1.563	0.533
15	1.914	1.624	0.704	1.914	1.624	0.633	1.927	1.635	0.577
16	1.996	1.714	0.755	1.996	1.714	0.694	2.009	1.725	0.670
17	2.108	1.841	0.840	2.108	1.841	0.774	2.122	1.853	0.749
18	2.230	1.984	0.950	2.203	1.984	0.874	2.245	1.989	0.869
19	2.427	2.243	1.113	2.413	2.335	1.072	2.433	2.313	1.069
20	2.701	2.715	1.459	2.675	2.715	1.367	2.669	2.708	1.380
21	3.208	4.205	10.979	3.212	4.128	5.477	3.286	4.138	10.393
22	4.674	11.118	13.985	4.718	12.703	14.008	4.702	11.191	13.851
23	11.169	13.415	14.251	11.097	13.117	14.068	11.316	13.503	13.814
24	12.984	13.951	14.417	13.521	14.110	14.218	12.873	14.377	13.703
25	13.631	14.256	14.496	13.480	14.256	14.115	13.660	13.908	14.217
26	13.720	14.409	14.566	13.931	14.409	14.387	13.875	14.503	14.299
27	14.094	14.511	14.604	14.094	14.511	14.428	14.186	14.606	14.360
28	14.223	14.594	14.594	14.223	14.594	14.466	14.316	14.690	14.408
29	14.333	14.650	14.620	14.333	14.650	14.486	14.426	14.746	14.435
30	14.434	14.746	14.732	14.434	14.746	14.506	14.528	14.843	14.470