

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



OBTENCIÓN DE INDICADORES ÁCIDO – BASE A PARTIR DE CÁSCARA DE  
*Phaseolus vulgaris* (FRÍJOL NEGRO)

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR  
CELIA ELIZABETH BARAHONA HENRÍQUEZ  
MIRNA LORENA RIVERA BONILLA

PARA OPTAR AL GRADO DE  
LICENCIATURA DE QUÍMICA Y FARMACIA

DICIEMBRE 2006

SAN SALVADOR, SAN SALVADOR, CENTRO AMERICA.



©2004, DERECHOS RESERVADOS

Prohibida la reproducción total o parcial de este documento,  
sin la autorización escrita de la Universidad de El Salvador

<http://virtual.ues.edu.sv/>

SISTEMA BIBLIOTECARIO, UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

## **UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

### **Rectora:**

Dra. María Isabel Rodríguez

### **Secretaria General:**

Licda. Alicia Margarita Rivas de Recinos

## **FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA**

### **Decano**

Lic. Salvador Castillo Arévalo

### **Secretaria**

MSc. Miriam del Carmen Ramos de Aguilar

## **COMITÉ DE TRABAJOS DE GRADUACIÓN**

### **Coordinadora General:**

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo

### **Asesora de Área de Aprovechamiento de Recursos Naturales**

Licda. Arely Cáceres Magaña

### **Asesora de Área de Control de Calidad de Productos Farmacéuticos, Cosméticos y Veterinarios**

MSc. Rocío Ruano de Sandoval

### **Docentes Directores**

Licda. Digna Padilla de García

Lic. Arturo Alfonso García Manzini

## **AGRADECIMIENTOS**

Principalmente a Dios por haber provisto todo lo necesario para la realización de este trabajo de graduación.

A nuestros docentes directores Licda. Digna Padilla de García y Lic. Arturo Alfonso García Mazzini, quienes se preocuparon por asesorarnos durante el trabajo de graduación.

A los jurados Licda. Arely Cáceres Magaña, MSc. Rocío Ruano de Sandoval y a la coordinadora general de los trabajos de graduación Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo por revisar exhaustivamente nuestro trabajo de graduación y señalar las áreas que se tenían que mejorar para obtener una investigación de calidad.

También a todo el personal de la Facultad de Química y Farmacia: a los docentes, a los laboratoristas y personal administrativo por su enorme ayuda para la ejecución de esta investigación.

Finalmente agradecemos a nuestros padres, hermanos, familiares, amigos/(as) y compañeros, por su apoyo durante la carrera y en esta investigación.

MUCHAS GRACIAS.

Con Cariño: Celia Barahona

Mirna Rivera

## DEDICATORIA

Por la culminación de una meta más en mi vida, doy gracias a Dios Todopoderoso por darme la sabiduría, iluminación y paciencia necesaria en cada instante, para lograr con éxito la meta propuesta.

A mi gran amiga y Madre Mirian Delfina Henríquez de Barahona por sus oraciones, confianza y enseñarme a nunca rendirme ante cualquier obstáculo.

A mi Padre Héctor Alfonso Barahona por haberme regalado el privilegio de nacer y por el apoyo, sacrificio, respaldo incondicional para el sostenimiento y culminación de mis estudios, al igual que su amor y comprensión.

A mis queridos Hermanos (Yaneth Esmeralda y César Alexander) por todo su apoyo, cariño, solidaridad y comprensión que tuvieron siempre a lo largo de la carrera.

Y a todos aquellas personas; especialmente (Fam. Rivera Menjívar, Rodríguez Martínez y Soto Aragón), que con sinceridad me regalaron y que a su vez aprendí, la amistad, paciencia, responsabilidad, perseverancia, conocimientos y muchos mas valores que ahora llevo conmigo para ponerlos en práctica en esta nueva etapa de mi vida profesional.

A mi compañera de Tesis Mirnita por su colaboración y paciencia en el desarrollo y culminación del trabajo de Graduación.

A todos ellos dedico y doy Gracias por estar siempre allí...

Celia

## DEDICATORIA

Al ser mas importante y maravilloso..., la razón de mi vivir, a mi amado Padre Dios, ya que, por su voluntad y misericordia me ha permitido culminar el principio de muchos éxitos.

A mi mamá Ana, por su amor, quien con su esfuerzo abnegado me apoyo en todo el trayecto de la carrera.

A mi papá Jorge por sus sabios consejos y fomentar en mi la visión de superación.

A mi hermana Keila por su ayuda incondicional.

A mi hermanito Eliseo por ser una alegría en mi vida.

A mi tía María Eugenia por su colaboración desinteresada.

A toda la Familia Bonilla y Familia Molina por su cariño y desearme lo mejor.

A mi compañerita de tesis Celia por su dinamismo y hospitalidad en el desarrollo del trabajo de graduación.

A todos ellos GRACIAS!!!

Mirna

## ÍNDICE

	<b>Pág.</b>
Resumen	
CAPITULO I	
1.0 Introducción	xx
CAPITULO II	
2.0 Objetivos	24
2.1 Objetivo General	25
2.2 Objetivos Específicos	25
CAPITULO III	
3.0 Marco Teórico	26
3.1 Ácidos y Bases	27
3.2 pH	28
3.3 Reacciones de neutralización	30
3.4 Reacciones de ácidos y bases	34
3.5 Principales grupos responsables de la coloración de especies vegetales.	36
3.6 Taninos	36
3.7 Flavonoides	37
3.8 Antocianinas	40
3.8.1 Estructura de los antocianidosos	41

3.8.2	Propiedades fisicoquímicas de las antocianinas	43
3.8.3	Extracción de las antocianinas	44
3.8.4	Especie de frijol	45
3.8.4.1	Origen y distribución geográfica	45
3.8.4.2	Diversidad y descripción genética	45
3.8.4.3	Frijol Negro	47
3.9	Soluciones amortiguadoras	51
3.9.1	Capacidad amortiguadora	52
3.10	Indicadores	52
3.10.1	Aplicaciones de los indicadores	55
3.10.2	Error del indicador	56
3.11	Hidrólisis	57
3.12	Análisis volumétrico	60
3.12.1	Titulación por neutralización	61
3.12.2	Titulación de ácidos y bases	62
3.12.3	Curvas de titulación	63
3.12.3.1	Ácido fuerte-base fuerte	63
3.12.3.1	Ácido débil-base fuerte	63
3.12.3.3	Base débil-ácido fuerte	64
3.12.3.4	Ácido débil-base débil	65



## CAPITULO IV

4.0 Diseño Metodológico	66
4.1 Tipo de Estudio	67
4.2 Investigación Bibliográfica	67
4.3 Investigación de Campo	67
4.4 Investigación Experimental	68
4.4.1. Especie en Estudio en estado Seco	70
4.4.2. Especie en Estudio en estado Fresco	78

## CAPITULO V

5.0 Resultados y Discusión de Resultados	89
--	----

## CAPITULO VI

6.0 Conclusiones	111
------------------	-----

## CAPITULO VII

7.0 Recomendaciones	116
Bibliografía	
Glosario	
Anexos	

## ÍNDICE DE ANEXOS

### ANEXO No.

- 1: Lista de Material, Equipo y Reactivos.
- 2: Preparación de Reactivos.
- 3: Cálculos para la obtención del punto de equivalencia graficando la segunda derivadas a partir de los datos obtenidos en la titulación Acido Fuerte-Base Débil del extracto etanólico de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro).
- 4: Cálculos para la obtención del punto de equivalencia graficando la segunda derivadas a partir de los datos obtenidos en la titulación Acido Débil-Base Fuerte del extracto etanólico de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro).
- 5: Cálculos para la obtención del punto de equivalencia graficando la segunda derivadas a partir de los datos obtenidos en la titulación Base Débil – Ácido Fuerte del extracto etanólico de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro).
- 6: Extractor Soxhlet.
- 7: Electrodo de Calomel.
- 8: Fotografías de una plantación de frijol y vainas de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro)
- 9: Fotografías del proceso de análisis.

## ÍNDICE DE CUADROS

### CUADRO No.

- 1: Zonas agroecológicas para el cultivo de Frijol Negro.
- 2: Composición química del Frijol Negro.
- 3: Extractos de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) e intensidad de coloración obtenidos.
- 4: Resultados de Pruebas Fitoquímicas de los Extractos que presentaron mayor intensidad de coloración (Etanol 96% y Etanol al 96% levemente acidificado con Acido Tartárico (pH 5)
- 5: Extractos obtenidos de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) frente a Ácido Clorhídrico 0.1M e Hidróxido de Sodio 0.1M.
- 6: Variación de color frente a distintos valores de pH del extracto etanólico de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro).
- 7: Comportamiento del papel Indicador obtenido de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) en el extracto etanólico frente a un ácido y una base.
- 8: Valores de pH y su coloración en la Titulación Acido Fuerte-Base Fuerte de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro).
- 9: Valores de pH y su coloración en la Titulación Acido Débil-Base Fuerte de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro).
- 10: Valores de pH y su coloración en la Titulación Acido Fuerte-Base Débil de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro).

- 11: Estabilidad física aparente de los diferentes extractos de ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro), en estado seco, realizados por semana durante tres meses.
- 12: Estabilidad física aparente de los diferentes extractos de ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro), en estado fresco, realizados por semana durante tres meses.
- 13: Preparación de Solución Buffer a pH 1-13
- 14: Datos para obtener la gráfica de titulación Ácido Fuerte (HCl 0.1M)-Base Fuerte (NaOH 0.1M).
- 15: Datos para obtener la gráfica de titulación Ácido Débil (CH<sub>3</sub>COOH 0.1M)-Base Fuerte (NaOH 0.1M).
- 16: Datos para obtener la gráfica de titulación Base Débil Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0.1M)-Ácido Fuerte (NaOH 0.1M).

## ÍNDICE DE FIGURAS

### FIGURA No.

- 1: Estructuras de taninos
- 2: Estructura general de los flavonoides.
- 3: Estructura general de los antocianidosos.
- 4: Antocianinas frecuentemente encontradas en las plantas.
- 5: Esquema de reacciones del catión flavilio
- 6: Varias especies de frijoles
- 7: Granos de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro)
- 8: Procedimiento para realizar una titulación
- 9: Esquema del método de extracción.
- 10: Remoción de la cáscara de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) después del proceso de hinchamiento de la cáscara en la semilla.
- 11: Equipo Soxhlet
- 12: Forma de llenar el percolador.
- 13: Proceso de Extracción mediante Percolación aplicando el Método Soxhlet, para obtener el extracto a partir de *Phaseolus vulgaris* utilizando como solventes el agua, etanol y etanol acidificado con ácido tartárico pH 5 respectivamente.
- 14: Filtración de los extractos obtenidos tanto Maceración como por Reflujo con Soxhlet.

- 15: Periodo de maceración con la cáscara de ***Phaseolus vulgaris*** (Fríjol Negro) frente a los diferentes solventes.
- 16: Adición del solvente a la cáscara de ***Phaseolus vulgaris*** (Fríjol Negro) contenido en el frasco.
- 17: Proceso de elaboración de Papel Indicador.
- 18: Extractos obtenidos con diferentes solventes: M.Ac., M.A., M.E., M.E.A., M.IPA., R.A., R.E., R.E.A. de ***Phaseolus vulgaris*** (Fríjol Negro) en estado Fresco.
- 19: Extractos obtenidos con diferentes solventes: M.Ac., M.A., M.E., M.E.A., M.IPA., R.A., R.E., R.E.A. de ***Phaseolus vulgaris*** (Fríjol Negro) en estado Seco.
- 20: Resultados obtenidos de los ensayos fitoquímicos de los extractos R.E. de ***Phaseolus vulgaris*** (Fríjol Negro) en estado Seco.
- 21: Resultados obtenidos de los ensayos fitoquímicos de los extractos R.E. de ***Phaseolus vulgaris*** (Fríjol Negro) en estado Fresco.
- 22: Viraje e intensidad de coloración del Extracto de ***Phaseolus vulgaris*** (Fríjol Negro) en estado Seco ante Ácido Clorhídrico 0.1M e Hidróxido de Sodio 0.1M respectivamente.
- 23: Extractos de ***Phaseolus vulgaris*** (Fríjol Negro) en estado Fresco, seleccionados por su mayor intensidad de coloración frente a Ácido Clorhídrico 0.1M e Hidróxido de Sodio 0.1M respectivamente.

- 24: Escala de pH obtenido con el extracto de R.E. de ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro) en estado Seco.
- 25: Escala de pH obtenido con el extracto R.E. ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro) en estado Fresco.
- 26: Papel Indicador obtenido del extracto M.E y R.E. en proceso de secado.
- 27: Viraje de color del papel Indicador obtenido de ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro) frente a un ácido y una base.
- 28: **x:** Acido Clorhídrico 0.1M y Extracto Etanólico de ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro) antes de la Titulación.
- y:** Coloración de Punto Final de A con Hidróxido de Sodio 0.1M.
- 29: Grafico de la Titulación potenciométrica de Acido Fuerte-Base Fuerte, utilizando como indicador ácido-base el extracto etanólico de ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro).
- 30: **x:** Acido Acético 0.1M y Extracto Etanólico de ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro) antes de la Titulación.
- y:** Coloración de Punto Final de A con Hidróxido de Sodio 0.1M.
- 31: Grafico de la Titulación potenciométrica de Acido Débil-Base Fuerte, utilizando como indicador ácido-base el extracto etanólico de ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro).
- 32: **x:** Carbonato de Sodio 0.1M y Extracto Etanólico de ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro) antes de la Titulación.
- y:** Coloración de Punto Final de A con Acido Clorhídrico 0.1M.

- 33: Grafico de la Titulación potenciométrica de Base Débil-Acido Fuerte, utilizando como indicador ácido-base el extracto etanólico de ***Phaseolus vulgaris*** (Fríjol Negro).
- 34: Electrodo de referencia de calomel típico.
- 35: Plantación de fríjol
- 36: Vaina que contiene a ***Phaseolus vulgaris***
- 37: Operación de Pesada de 20 g de ***Phaseolus vulgaris*** (Fríjol Negro) para macerar y posteriormente retirar la cáscara.
- 38:Proceso de hinchamiento de ***Phaseolus vulgaris*** (Fríjol Negro), por medio de una leve maceración para la posterior remoción de la cáscara con los respectivos solventes.
- 39:Proceso de hinchamiento de ***Phaseolus vulgaris*** (Fríjol Negro), por medio de una leve maceración para la posterior remoción de la cáscara con los respectivos solventes para su posterior extracción por el Metodo Soxhhlet.
- 40: Operación de pesada de 20g de cáscara de ***Phaseolus vulgaris*** (Fríjol Negro), para cada extracción.



## ABREVIATURAS

**M.Ac.:** Extracto obtenido por Maceración con Acetona.

**M.A.:** Extracto obtenido por Maceración con Agua.

**M.E.:** Extracto obtenido por Maceración con Etanol al 96%.

**M.E.A.:** Extracto obtenido por Maceración con Etanol al 96% levemente  
Acidificado.

**M.IPA:** Extracto obtenido por Maceración con Alcohol Isopropilico (IsoPropilic  
Alcohol).

**R.A.:** Extracto obtenido por extracción utilizando el Método Soxhlet y Agua  
como solvente.

**R.E.:** Extracto obtenido por extracción utilizando el Método Soxhlet y Etanol al  
96% como solvente.

**R.E.A.:** Extracto obtenido por extracción utilizando el Método Soxhlet y Etanol al  
96% levemente Acidificado como solvente.

**SCE:** Electrodo Saturado de Calomel (Saturated Calomen Electrode).

**Opt:** optimo

**msnm:** metros sobre el nivel del mar.

**A.R.:** Analitic Reactive (Grado Analítico)

## RESUMEN

El presente trabajo tiene por objeto obtener indicadores naturales ácido-base a partir de la cáscara de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro).

La cáscara de *Phaseolus vulgaris* posee compuestos llamados Antocianinas, los cuales poseen en su estructura un ión inestable llamado Flavilio, el cual modifica su estructura, presentando diversas coloraciones, según el pH de la solución en la que se encuentre, por tal razón, esta propiedad se puede utilizar como un indicador natural ácido-base.

Para la realización de este trabajo se hizo lo siguiente, primero se procedió a determinar la forma adecuada de retirar la cáscara a *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro); El método más factible de extracción y el solvente adecuado para la obtención de un extracto que posea las condiciones adecuadas para utilizarse como indicador. Se realizaron pruebas fitoquímicas buscando determinar taninos, flavonoides y antocianinas; También se observaron las diferentes coloraciones del extracto frente a una escala de pH con soluciones tampón en un rango de pH 1-13. Se elaboro papel indicador y se observo su comportamiento frente a un ácido y una base. Finalmente se realizaron una serie de titulaciones para observar el punto final y determinar gráficamente el punto de equivalencia de una valoración. Luego de haber obtenido los extractos se inicio un estudio de estabilidad acelerada con los parámetros estipulados en

las normativas para determinar las condiciones de almacenamiento y su periodo de utilidad.

Se elaboraron las conclusiones y recomendaciones en base a los resultados obtenidos integrados con las bases teóricas de este trabajo.

Luego de haber desarrollado la metodología presente en el trabajo y obtener resultados favorables se propone el uso de el extracto etanólico obtenido a partir de la cáscara seca de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro), aplicando el método de extracción Soxhlet, como indicador ácido-base, ya que, fue el que presento mayor estabilidad y las mejores características; para realizar análisis que involucren titulaciones ácido fuerte-base fuerte, ácido débil-base fuerte y base débil-ácido fuerte.

**CAPITULO I**  
**INTRODUCCIÓN**

## 1. INTRODUCCIÓN

El análisis químico estudia los métodos y las técnicas para determinar la composición de la materia en forma cualitativa y cuantitativa. Existen dos grandes grupos de análisis: el análisis cualitativo y el análisis cuantitativo, ambos se asemejan en el hecho de que se utiliza para su determinación cualquiera de las propiedades de la sustancia de interés, ya sean químicas y físicas que puedan proporcionar la información deseada, sea solamente para detectarla o cuantificarla.

El primero trata de identificar los elementos y su forma en aniones y cationes, y el segundo trata de determinar la cantidad de uno o varios elementos presentes la muestra.

Es evidente, que normalmente se hace un análisis cualitativo antes de un análisis cuantitativo para conocer que elementos están presentes en la muestra. Por ello la química analítica ha empleado indicadores sintéticos con el fin de verificar cambios de pH por la variación de color, este tipo de análisis ha sido una práctica muy antigua que fue introducida desde el siglo XVIII, en donde se determino que el extracto coloreado de ciertos frutos, vegetales, flores cambian de color en soluciones ya sean ácidas o básicas.

Con el correr de los años, varios fueron los científicos que le dieron continuidad a la investigación y concluyeron que las sustancias responsables de la coloración de varias especies florales y vegetales se debieron a la presencia de flavonoides y sus copigmentos las antocianinas las cuales son responsables

específicamente de colores azul, violeta, rojo y rosa, estos al ser extraídos presentaban virajes de color que variaban en función de la acidez o alcalinidad del medio en el que se encuentran, por lo tanto fueron llamados indicadores naturales.

El Salvador posee una riqueza de flora que puede ser explotada no solamente para fines medicinales o en la industria alimenticia, si no también como indicadores ácido-base de origen natural, ya que, de esta manera se estaría proponiendo alternativas para disminuir el impacto económico y ambiental que se da en el uso excesivo de reactivos químicos.

La presente investigación se propone la obtención de indicadores Ácido-Base de origen natural a partir de cáscaras de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) existente en el territorio salvadoreño.

Para lograr el propósito de esta investigación se desarrollo toda una metodología. La cáscara de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) se sometio a un proceso de extracción en maceración y por el Método Soxhlet, utilizando solventes como acetona, agua, alcohol isopropilico, etanol y etanol acidificado. De los extractos obtenidos se escogio el etanolico (R.E.) el cual presento las mejores características como intensidad de color. A dicho extracto se le realizaron pruebas fitoquímicas para identificar taninos, flavonoides y Antocianinas. Utilizando el mismo extracto se elaboro una escala de pH (1-13), elaboración de papel indicador, titulaciones ácido-base para observar el vire de color en la solución en función del pH, entre estas valoraciones se realizar ácido

fuerte (HCl 0.1M) vrs base fuerte (NaOH 0.1M), ácido débil (CH<sub>3</sub>COOH 0.1M) vrs base fuerte (NaOH 0.1M), base débil (Carbonato de sodio 0.1M) vrs ácido fuerte (HCl 0.1M); conjuntamente con un electrodo de vidrio. Finalmente se determino la estabilidad física aparente del extracto y de esta manera se obtuvo un indicador natural ácido-base a partir de la cáscara de *Phaseolus vulgaris* (Fríjol Negro) con calidad aceptable.



## **CAPITULO II**

### **OBJETIVOS**



## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GENERAL

Obtener indicadores naturales ácido-base a partir de Flavonoides y Taninos presentes en la cáscara de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro).

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 2.2.1 Realizar métodos de extracción factibles a la cáscara de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) para la obtención del indicador ácido-base, utilizando como solventes: agua, etanol, etanol levemente acidificado, alcohol isopropilico y acetona.
- 2.2.2 Realizar ensayos fitoquímicos para determinar Flavonoides y Taninos empleando los diferentes extractos de la cáscara de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro).
- 2.2.3 Elaborar papel indicador y la escala de pH a partir de los extractos obtenidos.
- 2.2.4 Determinar cualitativa y cuantitativamente la acidez y alcalinidad, mediante titulaciones ácido-base, utilizando como indicador el extracto obtenido de la cáscara de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro).
- 2.2.5 Proponer el uso de la técnica de obtención de los Indicadores Naturales Ácido-Base, para su utilización experimental en Análisis Químicos.

**CAPITULO III**  
**MARCO TEÓRICO**

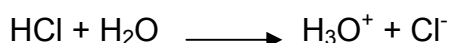
### 3.0 MARCO TEÓRICO

#### 3.1 ÁCIDOS Y BASES

Los ácidos y bases se definían por los químicos hace unos cuantos siglos en término de las propiedades de sus soluciones acuosas, es decir, un ácido es una sustancia acuosa de sabor agrio, irritante a la piel, neutralizador de las bases, análogamente una base será una solución acuosa de sabor amargo, untuosa al tacto y neutraliza los ácidos. <sup>(4)</sup>

##### 3.1.1 ÁCIDOS Y BASES DE ARRHENIUS

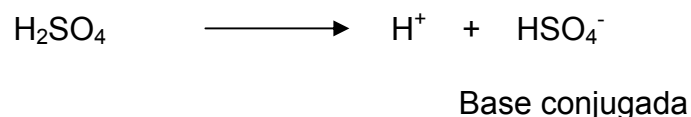
En 1887 Svante Arrhenius postuló que, cuando las moléculas de electrolitos se disuelven en agua, se forman iones positivos y negativos. A finales del siglo XIX, las definiciones de ácido y bases se expresaban en términos de la teoría de la ionización de Arrhenius. Los ácidos de Arrhenius son las sustancias que se disuelven en agua para formar iones hidronio ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ) y las bases son sustancias que se disuelven para producir iones hidroxilo ( $\text{OH}^-$ )



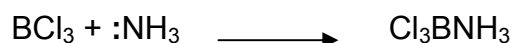
En 1923, J. N. Brønsted y T. M. Lowry sugirieron una nueva fórmula para describir los ácidos y las bases en un medio acuoso. <sup>(4)</sup>

De acuerdo con este sistema, los ácidos son donadores de protones y las bases son aceptores de protones. <sup>(4)</sup>

Los ácidos y las bases se clasifican de acuerdo a sus fuerzas relativas, es decir, la medida de su tendencia a donar o aceptar un protón en su molécula. El principio fundamental en el que se basan estas clasificaciones expresa que, cuanto más fuerte sea el ácido, tanto más débil será su base conjugada. (4)



G. N. Lewis ha enunciado una teoría general del comportamiento ácido-base. De acuerdo con este concepto un ácido de Lewis se define como cualquier especie que actúa como aceptor de pares electrónicos en las reacciones químicas, y una base es un donador de electrones. Esta definición se amplía con el concepto de la relación ácido-base en diversas reacciones que no implican transferencia de protones. Por ejemplo en la siguiente reacción el amoníaco actúa como base y el Boro como ácido: (4)



### 3.2 pH

Las concentraciones de los iones hidronios  $[\text{H}_3\text{O}^+]$  en solución acuosa diluida, tienen valores muy pequeños y que, para visualizarlos mejor se utiliza la forma exponencial. Sin embargo, estos varían en límites muy amplios y como frecuentemente se requiere graficarlos, presentan dificultades en su manejo o la aplicación de un método simple de correlación. Esto lo resolvió el químico

Danés Sören Peter Lauritz (Sørensen), en 1909 al expresar estos números complejos en simples números. <sup>(1)</sup>

Las concentraciones de los iones en valores exponenciales, se pueden convertir en números enteros o fracciones sencillas; dentro de un campo cuyos límites son de cero a catorce, es decir,  $1 \times 10^{-1}$  hasta  $1 \times 10^{-14}$ . <sup>(1)</sup>

La definición que dio Sørensen para el pH fue que esta era igual al logaritmo negativo de base diez de la concentración de los iones hidrogeno:

$$\text{pH} = -\log [\text{H}_3\text{O}^+]$$

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

Cuanto menor sea la concentración de los iones hidronios tanto mayor será el pH. <sup>(1)</sup> La determinación del pH puede hacerse por medio de los métodos siguientes:

- 1) Por el calculo teórico matemático, conociendo la concentración de los iones hidrógenos en la reacción.
- 2) Por colorimetría, mediante el uso de indicadores que están en forma coloreada que depende de la concentración de iones hidrógenos ( $\text{H}^+$ ).
- 3) Por pH metria, se determina con aparatos, estos se conocen con el nombre de electrodos de vidrio. El valor del pH se puede medir de forma precisa mediante un pHmetro, un instrumento que mide la diferencia de potencial entre dos electrodos: un electrodo de referencia (generalmente de plata/cloruro de plata) y un electrodo de vidrio que es sensible al ión hidrógeno.

El grado de acidez o basicidad de una solución se puede describir en forma total y conveniente expresando su valor de pH. <sup>(1)</sup>

Si el pH es siete, la solución es neutra;  $\text{pH} = 7$

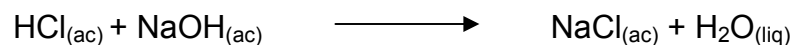
Si el pH es inferior a siete, la solución es ácida;  $\text{pH} < 7$

Si el pH es superior a siete la solución es básica;  $\text{pH} > 7$

En general el símbolo “p” delante de un símbolo significa “logaritmo negativo del símbolo”, es el moderador de  $-\log$ .

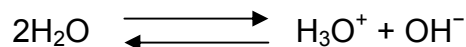
### 3.3 REACCIONES DE NEUTRALIZACIÓN <sup>(28)</sup>

Una reacción de neutralización es una reacción entre un ácido y una base, generalmente en las reacciones acuosas ácido-base se forma agua y una sal, un ejemplo es el producto de la reacción ácido-base del HCl con NaOH<sup>(13)</sup>



Las soluciones acuosas son buenas conductoras debido a la presencia de iones positivos y negativos a estos compuestos se les llama electrolitos. Los compuestos iónicos que se disocian completamente se conocen como electrolitos fuertes, un ejemplo de ellos es el NaCl. <sup>(28)</sup>

Las constantes de equilibrio para la disociación de electrolitos son llamadas constantes de disociación, un ejemplo de disociación es la del agua:



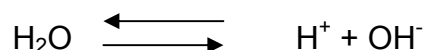
Los subíndices se utilizan por comodidad, para las diferentes constantes:

$K_a$  = constante de disociación de ácido débil

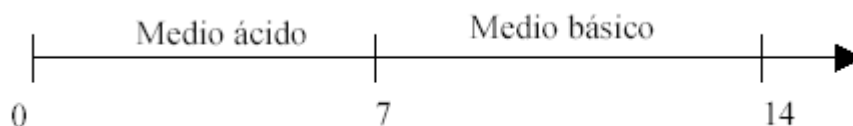
$K_b$  = constante de disociación de base débil

$K_w$  = constante de disociación del agua o de autoprotólisis =  $1 \times 10^{-14}$  o producto iónico del agua. <sup>(28)</sup>

Este producto indica que en agua pura o en cualquier solución acuosa deben estar presentes iones hidrógeno y oxidrilo, el producto de sus concentraciones debe ser una constante igual a  $K_w = 1 \times 10^{-14}$ . <sup>(28)</sup>



En el agua se ha establecido una escala de pH el cual está definido como el logaritmo negativo base diez de la concentración de hidronios ( $-\log[\text{H}^+]$ ) donde:



Ácido: sustancia que al disolverse en agua  $\text{H}_2\text{O}$  genera iones  $\text{H}^+$ . Los ácidos se clasifican en fuertes, fuerza media y débiles. <sup>(28)</sup>

Los ácidos fuertes se disocian completamente, cuando se disuelven en agua.

Ejemplos:  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,

$\text{HCl}$ ,  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{HClO}_4$ .  $K_a = \infty$

$\text{pH} = -\log [\text{H}^+] = -\log[\text{Ac. Fuerte}]$

Los ácidos de fuerza media se disocian parcialmente, sus constantes de acidez o de disociación son mayores a  $1 \times 10^{-3}$  aproximadamente.

Los ácidos débiles: No se disocian completamente. Entre más pequeña es la constante de acidez ( $K_a$ ), más débil es la acidez. Son ácidos débiles aquellos que tienen constantes de acidez menores o iguales a  $1 \times 10^{-3}$ . <sup>(28)</sup>

Base: sustancia capaz de donar iones  $\text{OH}^-$ .

Bases fuertes: se disocian al 100%, dona todos sus  $\text{OH}^-$ . Son las bases de los metales alcalinos, alcalinotérreos y térreos como  $\text{NaOH}$ ,  $\text{KOH}$ ,  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ ,  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ,  $\text{Al}(\text{OH})_3$ .  $K_b = \infty$

$$\text{pH} = 14 - \log [\text{OH}^-]$$

Bases débiles: No se disocian completamente

Base conjugada de un ácido de Brönsted: es la especie que resulta cuando el ácido pierde un protón. <sup>(28)</sup>

Ácido conjugado: es el producto de la adición de un protón con una base de Brönsted. A un ácido muy fuerte le corresponde una base conjugada muy débil. A una base muy fuerte le corresponde un ácido conjugado muy débil.

Relación entre la constante de acidez de un ácido y la constante de basicidad de su base conjugada.

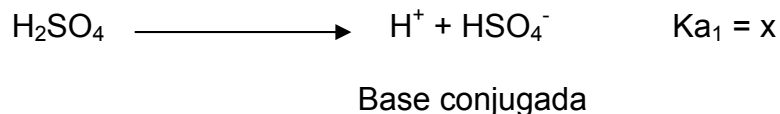
$$pK_b = 14 - pK_a \quad K_h = \frac{K_w}{K_a} \quad \text{ó} \quad K_h = \frac{K_w}{K_b}$$

Ácidos polipróticos: son los que pueden donar más de 1 protón. <sup>(13)</sup>

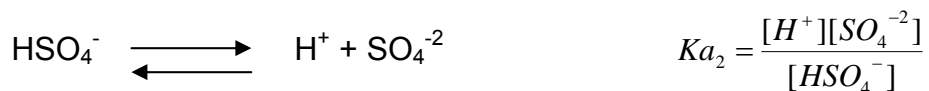
Ejemplos:  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_3$ .



Primera disociación:



Segunda disociación:



Ácido                      Base conjugada

Anfótero: es aquella sustancia que se comporta tanto como ácido y como base. Tienen la capacidad de reaccionar consigo mismo dependiendo del medio en que se encuentra. <sup>(28)</sup>

El  $\text{HSO}_4^-$  es un anfótero. Ejemplos:  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HPO}_4^-$

El pH de un anfótero no depende de la concentración del mismo. El pH de una solución de anfótero se calcula por la semisuma de los  $\text{pK}_a$ , de igual forma para las sales cuyos iones tienen propiedades ácido-base. <sup>(13)</sup>

Buffer, Tampón o Solución Reguladora: las soluciones reguladoras de pH son aquellas que son capaces de mantener el pH de las mismas a pesar de que se agreguen pequeñas cantidades ya sea de bases o de ácidos. Se preparan disolviendo un ácido y la base conjugada del mismo par, por ejemplo ácido acético- acetato de sodio. Una solución reguladora será más efectiva cuando la concentración del ácido y de su par conjugado sean iguales. Esto es, el pH se mantendrá en un valor igual al del  $\text{pK}_a$  según la fórmula siguiente: <sup>(28)</sup>

Ecuación de Henderson Hasselbach

$$pH = pK_a + \log \frac{[base]}{[ácido]}$$

$$pH = pK_a + \log \frac{[sal]}{[ácido]}$$

### 3.4 REACCIONES DE ÁCIDOS Y BASES

En el punto de equivalencia el pH de una reacción de neutralización es diferente según la fuerza del ácido y/o base que se neutraliza.

Los indicadores que muestran el punto de equivalencia no son igual de útiles para todas las reacciones, ya que, depende del pH que se da en el punto de equivalencia. <sup>(28)</sup>

Las reacciones Ácido – Base se pueden clasificar en cuatro categorías:

1. Ácido Fuerte vrs Base Fuerte. pH = 7
2. Ácido Débil vrs Base Fuerte. pH < 7
3. Ácido Fuerte vrs Base Débil. pH > 7
4. Ácido Débil vrs Base Débil. Depende de su hidrólisis.

1. Reacción de neutralización entre **ÁCIDO FUERTE (HCl)** y **BASE FUERTE (NaOH)**. El pH en el punto de equivalencia es siete, ya que, no todos los iones hidronios han sido neutralizados por los iones hidroxilos para dar agua. El resto de los iones no reacciona con el agua, ya que, el anion cloruro (Cl<sup>-</sup>) procede de un ácido fuerte (es una base débil frente al

agua); El catión sodio ( $\text{Na}^+$ ) de una base fuerte (es un ácido muy débil frente al agua), por lo tanto, ambos iones no se hidrolizan. <sup>(28)</sup>

2. Cuando la neutralización se produce entre un **ÁCIDO FUERTE (HCl 0.1M)** y una **BASE DÉBIL (Carbonato de amonio 0.1M)**. El catión de la base ( $\text{NH}_4^+$ ) sufre una hidrólisis produciéndose iones hidronio, por lo cual el pH es menor que siete. <sup>(28)</sup>
3. Cuando la neutralización se produce entre una **BASE FUERTE (NaOH 0.1M)** y un **ÁCIDO DÉBIL ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ )**. El anión del ácido ( $\text{COO}^-$ ) sufre una hidrólisis produciéndose iones hidróxido, por lo que el pH es mayor de siete. <sup>(28)</sup>
4. Cuando la neutralización se produce entre una **BASE DÉBIL y un ÁCIDO DÉBIL**. El anión del ácido sufre una hidrólisis al igual que el catión de la base, por lo que el pH es menor que siete si es más débil la base, y es mayor de siete si el ácido es más débil. <sup>(28)</sup>

La elección del indicador adecuado para determinar el punto de equivalencia dependerá del pH final, que tiene que estar dentro del intervalo en el que el indicador sufre el cambio de color.

Las curvas de neutralización varían según los ácidos y las bases elegidas. El punto de equivalencia puede determinarse experimentalmente con un indicador adecuado y también se puede calcular en forma teórica. <sup>(28)</sup>

### 3.5 PRINCIPALES GRUPOS RESPONSABLES DE LA COLORACIÓN DE ESPECIES VEGETALES. <sup>(21)</sup>

EJEMPLO	COLORACIÓN
Clorofila	hojas verdes
$\beta$ -carotenos	zanahoria
Licopeno	tomate
Taninos	variedad de vegetación
Flavonoides	flores, frutos, otros.

La clorofila permite que las células de las plantas verdes lleven a cabo el proceso de la fotosíntesis por medio de la captura de energía radiante de la luz, permitiendo a si la coloración de la variedad de especies vegetales en el mundo entero. <sup>(28)</sup>

Además la diversidad de plantaciones vegetales poseen en su composición sustancias propias de su especie las cuales las diferencian unas de otras. <sup>(28)</sup>

### 3.6 TANINOS

Los taninos son compuestos polifenólicos, más o menos complejos, de origen vegetal, masa molecular relativamente elevada, sabor astringente, conocidos y empleados desde hace muchos siglos por su propiedad de curtir las pieles, cicatrizantes, antidiarreicos y antioxidantes. Esto se debe a su capacidad para unirse a macromoléculas como hidratos de carbono y proteínas. Precipitan con sales de metales pesados, proteínas y alcaloides. <sup>(27)</sup>

Se trata de compuestos hidrosolubles, dando a veces disoluciones coloidales en agua, solubles también en alcohol y en acetona e insolubles en disolventes orgánicos apolares. <sup>(27)</sup>

Los taninos se presentan en especies de familias vegetales de todo el mundo, se han identificado aproximadamente 500 especies de plantas que contienen varias cantidades de taninos, entre las principales familias botánicas con importancia en la obtención de taninos se pueden citar a las siguientes: **Leguminosae** (frijoles, soya), **Rosaceae**, **Polygonaceae**, **Rhizophoraceae** (mangle) y **Myrtaceae** (Calistemo, eucalipto, guayabo, manzana rosa). Algunos géneros como las acacias (**Acacia spp.**), los encinos (**Quercus spp.**) y algunos pinos (**Pinus spp.**) que habitan bosques de pino-encino o zonas de transición son importantes en la producción de estos productos. <sup>(25)</sup>

Los taninos son sustancias que se producen en diversas partes de las plantas, como son: corteza, frutos, hojas, raíces y semillas; a pesar de tener un origen común, la especificidad de las plantas le da a los taninos diferencias en color, calidad y concentración. <sup>(19)</sup>

El tanino es un compuesto que se oxida al contacto con el aire, es inodoro y de sabor agrio, soluble en agua, alcohol y acetona; reacciona con el cloruro férrico y otras sales; es combustible con un punto de inflamación de 199 °C, una temperatura de autoignición de 528.5 °C; poco tóxico por ingestión o inhalación.

Clásicamente se han distinguido dos tipos de taninos: <sup>(19)</sup>

Taninos hidrolizables, llamados también gálicos o pirogálicos. Estos taninos como su denominación indica se hidrolizan con facilidad tanto por ácidos y álcalis como por vía enzimática y son generalmente de formación patológica. Se localizan en algunas Dicotiledóneas especialmente en **Fagaceae** (roble, bellota, encino), **Anacardiaceae** (marañón, mango, jocote) y **Leguminosae** (frijoles, soya).<sup>(27)</sup>

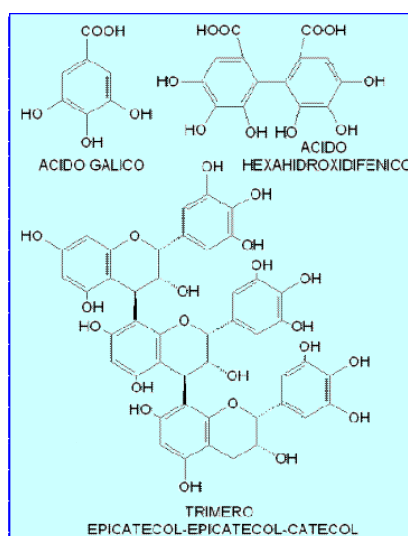


Figura No. 1. Estructuras de taninos<sup>(27)</sup>

Taninos condensados o proantocianidinas. Se conocen también como no hidrolizables, ya que se hidrolizan con dificultad y si lo hacen se convierten en antocianidinas, y por el contrario, el tratamiento con calor y ácidos minerales origina polímeros de alto peso molecular (flobáfenos). Este tipo de taninos se producen en el metabolismo normal de los vegetales por lo que se consideran fisiológicos y se encuentran ampliamente repartidos en el reino vegetal.<sup>(1)</sup>

Químicamente se forman por condensación de catequinas o catecoles (flavanoles) con uniones directas C-C entre las moléculas, generalmente en 4®

8 o en 4<sup>®</sup> 6 y no contienen azúcares en su estructura. Biogenéticamente proceden del metabolismo de los flavonoides, se forman a partir de una flavanona por hidroxilación en el C-3. <sup>(1)</sup>

Taninos condensados, se presentan generalmente en la madera de la corteza y las raíces de plantas como el quebracho, caña agria, eucalipto, oyamel y el mangle, entre otras; están constituidos por unidades flavonoides, las cuales soportan diversos grados de condensación, carbohidratos y restos de aminoácidos. <sup>(1)</sup>

### 3.7 FLAVONOIDES <sup>(27)</sup>

#### ESTRUCTURA GENERAL DE LOS FLAVONOIDES

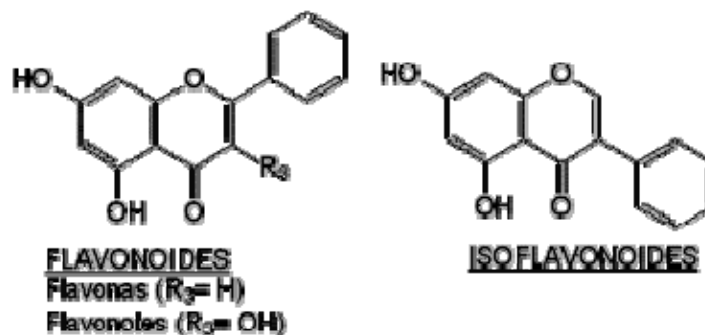


Figura No. 2 Estructura general de los flavonoides.

Los flavonoides, son compuestos ampliamente repartidos en la naturaleza, se originan a través de la combinación de la ruta del acetato y del shikimato, vías mediante las cuales se biosintetiza la estructura diaril-propánica (condensación de un triacetato que origina el anillo A y de un ácido cinámico que da lugar al anillo B). En la naturaleza pueden encontrarse tanto en forma libre (geninas) como combinados con azúcares mediante uniones O- y C-heterosídicas. <sup>(2)</sup> La

mayoría de ellos están constituidos por un núcleo bencénico unido a una  $\gamma$ -pirona, incluyendo además en distintas posiciones, C-1, C-2 o C-3, un segundo anillo bencénico dando lugar a los neoflavonoides, flavonoides propiamente dichos o a los isoflavonoides respectivamente. Con esta estructura existen un número elevado de compuestos distintos que pueden clasificarse en función del grado de oxidación del anillo piránico central. <sup>(1)</sup>

Se conocen unos 200 flavonoides naturales se encuentran extensamente distribuidos entre las plantas tanto libres como glicósidos, estos últimos constituyen estructuras para darle color a las flores, frutos y hojas. <sup>(19)</sup>

Dentro de los diversos tipos de flavonoides existentes se encuentran: flavonas, isoflavonas, catequinas, auronas, chalconas y antocianinas. <sup>(1)</sup>

### **3.8 ANTOCIANINAS** <sup>(27)</sup>

El termino Antocianina describe la forma usualmente encontrada en la naturaleza, presenta una molécula que contiene carbohidratos la cual es clasificada como glicosido, el núcleo principal de la molécula de Antocianinas.

Esta constituida por 3 anillos con dobles ligaduras conjugadas llamadas "Agliconas" (libre de azúcar), y también llamado "Antocianidina". <sup>(1)</sup>

Las antocianinas son un grupo de pigmentos flavonoides, solubles en agua, que le dan las coloraciones, azul, rojo y morado a las flores, frutos y tejidos con coloraciones que van del rojo hasta el violeta y el azul. Algunas antocianinas son lábiles y se descomponen en presencia de ácidos o minerales, son siempre encontrados en forma de glucósidos. <sup>(14)</sup>



Además de su función biológica y el interés terapéutico ligado a su actividad sobre la permeabilidad y la resistencia de los capilares, los Antocianos constituyen colorantes atóxicos, utilizables en la industria de medicamentos y más generalmente, en la industria alimenticia. (7)

### 3.8.1 ESTRUCTURA DE LOS ANTOCIANIDOSOS. (27)

La estructura de los Antocianos depende del grado de oxidación del anillo piránico central.

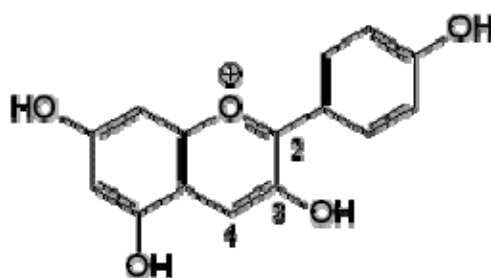
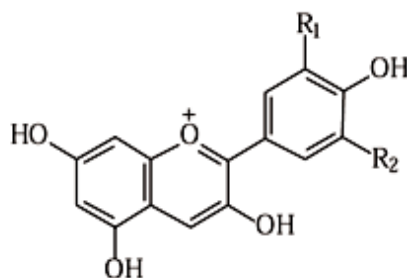


Figura No. 3 Estructura general de los antocianidosos.

Todos los Antocianos llevan un hidroxilo en posición 3 y de ellos los más abundantes son los di- o trisustituidos sobre el núcleo B (-OH<sup>-</sup>, -OCH<sub>3</sub>); generalmente las posiciones 4, 5 y 7 están sustituidas por hidróxidos fenólicos libres, indispensables para la formación de quinoídicas (Ver Figura No. 3). (27)

Los Antocianos, generalmente se describen con una carga positiva localizada sobre el átomo de oxígeno intracíclico del núcleo piránico, (2) esta anotación “oxonio” es únicamente un convenio de escritura, ya que en realidad, la carga se encuentra deslocalizada en la estructura completa. (27)



	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>
<b>CIANIDINA</b>	OH	H
<b>PEONIDINA</b>	OCH <sub>3</sub>	H
<b>DEFFINIDINA</b>	OH	OH
<b>PETUNIDINA</b>	OCH <sub>3</sub>	OH
<b>MALVIDINA</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
<b>PELARGONIDIN</b>	H	H
<b>A</b>		

Figura No.4 Antocianinas frecuentemente encontradas en las plantas. <sup>(27)</sup>

#### **Función y características:**

**(cianidina):** colorante alimentario rojo

**(delfinidina):** colorante alimentario azul

**(malvidina):** colorante alimentario púrpura

**(pelargonidina):** colorante alimentario anaranjado

**(peonidina):** colorante alimentario rojo-marrón

**(petunidina):** colorante alimentario rojo oscuro <sup>(27)</sup>

Estos colorantes son ampliamente utilizados en los alimentos, a pesar de ser inestables. Además, pueden verse influenciados por la temperatura, la luz y el pH. <sup>(27)</sup>

### **3.8.2 PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DE LAS ANTOCIANIDINAS** <sup>(27)</sup>

Los Antocianosidos son solubles es agua y en alcohol, insolubles en disolventes orgánicos apolares, se extraen en alcohol, en medio ligeramente ácido. <sup>(20)</sup>

La relativa inestabilidad del cation flavilio en solución, es el elemento fundamental del comportamiento de estas sustancias, la inestabilidad de las soluciones, se manifiestan 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 ion flavilio; un aumento del pH conduce, significativamente a una chalcona, si el hidróxido en posición 3 esta libre, la degradación es irreversible. <sup>(2) (27)</sup>

En el vegetal, los Antocianosidos (Antocianinas) se acumulan en las vacuolas y el pH del medio puede determinar la coloración de los tejidos. <sup>(14)</sup> Los antocianósidos, debido al núcleo del flavilio, son muy inestables en disociación acuosa, lo que se manifiesta por cambio de coloración en función del pH: en medio muy ácido predomina el ion flavilio (rojo), en medio neutro o ligeramente ácido predomina la base (azul), en muchos casos debido al pH existente, el carbol incoloro es el mayoritario, lo que implica que las coloraciones observadas estén ligadas a una compigmentación anhidro baseflavonoides o a un complejo con los metales. <sup>(1)</sup>

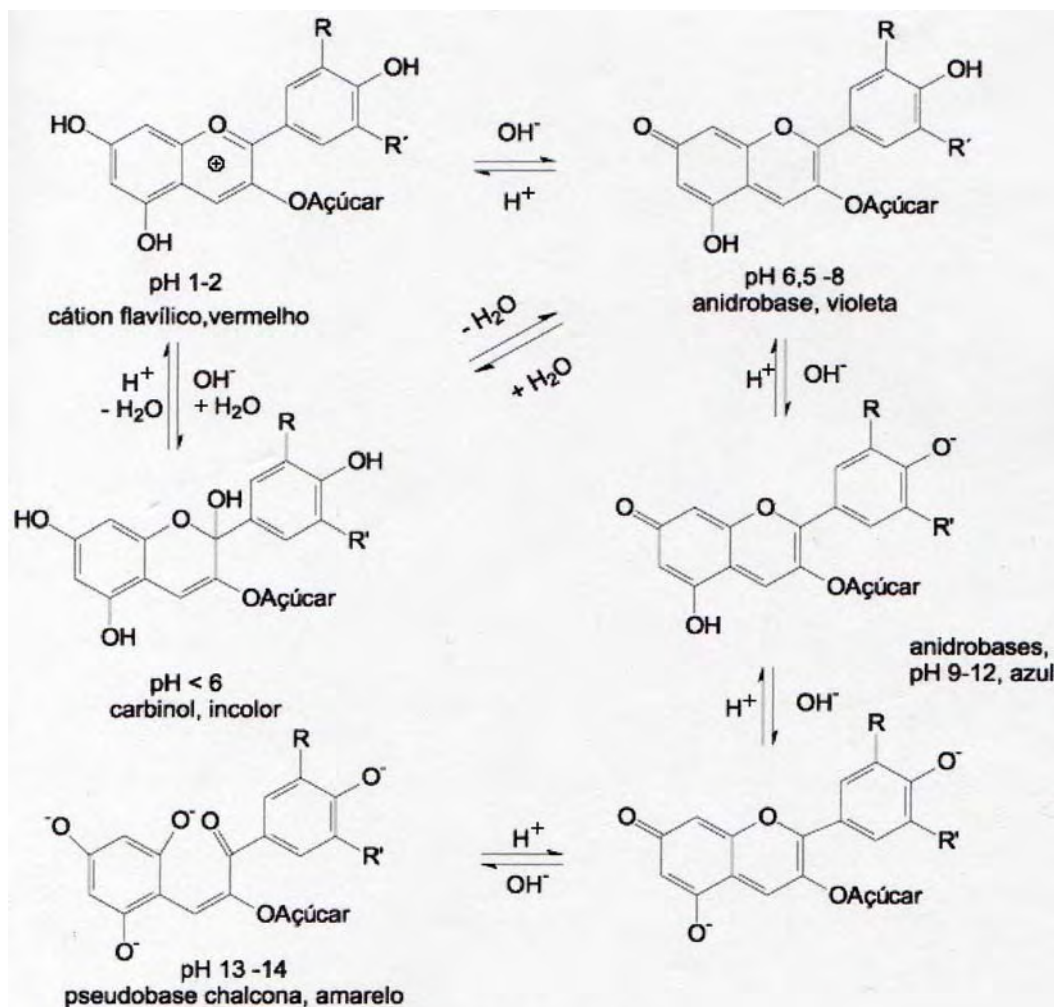


Figura No. 5 Esquema de reações del cátion flavílio.

Las disoluciones de los Antocianosidos son decoloradas por los bisulfitos alcalinos y deben conservarse en atmósfera inerte, a baja temperatura y en ausencia de luz. <sup>(1)</sup>

### 3.8.3 EXTRACCIÓN DE LAS ANTOCIANINAS

Generalmente la extracción se realiza con alcohol acidificado; el acido puede ser clorhídrico o, para evitar la destrucción de los acil-Antocianosidos, un acido orgánico como el tartárico. <sup>(29) (2)</sup>

Conforme a investigaciones previas se ha determinado que las extracciones de material vegetal pueden realizarse mediante una maceración con etanol, etanol ligeramente acidificado, alcohol isopropilico, acetona y agua; y reflujo con agua, etanol y etanol acidificado. <sup>(29) (2)</sup>

### **3.8.4 ESPECIE DE FRIJOL.** <sup>(11)</sup>

#### **3.8.4.1 ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN GEOGRAFICA.** <sup>(11)</sup>

Se considera originario de Centroamérica y México, proveniente de la especie ***Phaseolus aboriginus***.

Según material fósil, los cultivos de frijol se iniciaron hace 7,000 años en México y Perú y constituyo un alimento básico en la dieta de los nativos.

#### **DIVERSIDAD GENÉTICA Y DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.** <sup>(11)</sup>

Los criterios para clasificar las variedades de frijol se basan en un solo carácter:

1. El tipo crecimiento arbustivo (matocho) o trepador (guía).
2. Por la forma de la semilla: ***sphaericus***, ***compressus***, ***ellipticus***, etc.
3. Color distribución de los pigmentos: manchados, color uniforme.



Figura No. 6 Varias especies de frijoles <sup>(4)</sup>

4. Forma de la vaina en sección transversal: redonda, ovalada y aplanada.
5. Según su porte, los cultivos de frijol se han dividido en:
  - a) Arbustivos, de crecimiento bajo y determinado.
  - b) Trepadores, de tallos largos y crecimiento indefinido.
6. Combinación de estas características

#### **CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA** <sup>(11)</sup>



Figura No. 7 Granos de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) <sup>(6)</sup>

Nombre común: Frijol Negro

Nombre científico: *Phaseolus vulgaris*

Reino: Plantae

Grupo: Fanerógamas

Subdivisión: Angiosperma

Clase: Dicotiledónea

Sub clase: Dialipétalas

Familia: Leguminosas

Genero: Phaseolus

Especie: vulgaris

**FRÍJOL NEGRO** <sup>(26)</sup>

**Origen:** América Central y sur de México

**Descripción:** Altura de 50 a 70 cm.; raíces bien desarrolladas, con una raíz principal pivotante y muchas y muy ramificadas raíces secundarias cercanas de la superficie; tallos delgados y débiles, cuadrangulares, a veces rayados de púrpura; hojas trifoliadas, folíolos ovales o rómbicos-aovados, ápice acuminado, los laterales más o menos tubuloso, estandarte redondeado; fruto lineal, más o menos comprimido, suavemente curvado, dehiscente, 10-12x1 cm., verde morado o casi negro; semillas 2-15, reniformes oblongas a ovales o redondeadas, poco comprimidas, de color rojo, amarillo, café o negro.

**Zona Agroecológica:**

Cuadro No. 1 Zonas agroecológicas para el cultivo de Frijol Negro.

Temperatura °C	Precipitación mm/año	Altura msnm	Tolerancia a...			
			...sequía	...inundación	...sombra	...quema
6-29 opt. 16-21	600-3000 opt.	500-2000 opt.1000- 2000	moderada	poca	buena	poca

**Usos:** Alimentación humana: Se utilizan los granos secos o tiernos; las vainas enteras y verdes se consumen como verdura.

Puede utilizarse como abono verde en rotación, intercalado como cobertura con otros cultivos y como forraje de corte para animales

**Siembra:** Peso de 1000 semillas: 250 a 400 gramos. La densidad de siembra depende de la variedad y del manejo. Se siembra con una distancia de 40 a 60 cm. entre surcos y 8 a 12 plantas por metro lineal para una densidad de 140,000 a 175,000 plantas/mz

**Época de siembra:** Puede ser en primera o postrera según el régimen de lluvias local.

**Cantidad de semilla por hectárea:** 60 a 100 lb/mz

El sistema de frijol tapado consiste en regar al voleo la semilla sobre una superficie cubierta de vegetación natural; luego se hace la chapia a ras de suelo para que cubra las semillas; se utilizan de 45 a 60 lbs/mz.

**Rendimiento de semilla:** 8-40 qq (quintales de 100 lb) por Mz (7,000 m<sup>2</sup>).

**Valor Nutricional del grano:** Humedad: 7.4; Proteína: 24.3; Grasas: 0.6; Fibra: 4.9; Ceniza: 3.3

El frijol forma parte de la familia de las leguminosas que son granos formados por dos cotiledones. Esta familia está constituida por unos 600 géneros de donde se derivan más de 1,300 especies, pero sólo más de 20 de ellos son de interés comercial y de importancia económica, y se consumen como alimento ya sea en forma madura o como grano seco.

En Centroamérica se consumen principalmente una gama muy variada de frijoles pertenecientes a la especie de *Phaseolus vulgaris*, otros en menor grado de *Phaseolus áureas*, *Phaseolus lunatus*, *Leus esculenta*, entre otros; dentro de las leguminosas que se producen y que participan en menor



proporción en nuestra dieta alimenticia, son garbanzo, haba, lenteja, chícharo, cacahuate, frijol, soya entre muchos. Se consumen frijol rojo, negro, bayo y blanco. <sup>(17)</sup>

**Estructura básica:** La fruta es una vaina que consiste en varias semillas dentro de una cubierta exterior.

**Pericarpio:** Durante el crecimiento de la planta, las capas del pericarpio, exocarpio, mesocarpio y endocarpio son gruesas. Secándose en la maduración y pueden abrirse una vez que están secas

**Semilla:** Esta formada por: Tegumento, Embrión, Dos cotiledones, Células para el desarrollo de una nueva planta. No hay endosperma como en los cereales.

**Composición química:** La principal característica es el contenido de proteína siendo el frijol soya donde se presenta mayor proporción. En el cuadro No. 2 se describe la composición química de algunas variedades de frijol.

Como se observa, todas estas variaciones contienen una elevada proporción de proteína, sin embargo, son deficientes en algunos aminoácidos esenciales, sobre todo en aquellos que contienen azufre, pero son mejores que los cereales en lisina y triptófano por lo que la ingesta se ve favorecida mejorando la calidad nutritiva cuando se combina el consumo de las leguminosas con los cereales.

El valor biológico de las proteínas es bastante bajo más que por su valor nutritivo, por su baja digestibilidad. Esto ocurre por la existencia de factores tóxicos en las leguminosas tales como inhibidores de tripsina, quiotrípcina, amilasa pancreática etc. Por fortuna la mayoría de esos factores son

termolábiles, lo que reduce su actividad y favorece su consumo después de su cocción.

Cuadro No. 2 Composición química del Frijol Negro.

Tipo de Frijol	Proteína (g)	Niacina (mg)	Grasa (g)	Carbohidratos (g)	Calcio (mg)	Hierro (mg)	Tiamina (mg)	Rivoflamina (mg)
<b>Negro</b>	21.8	2.5	55.4	183	4.7	0.63	0.17	1.8
<b>Blanco</b>	22.5	2.7	52	185	4.6	0.6	0.15	1.8
<b>Soya</b>	37.3	20	24	187	8.7	0.7	0.1	1.6

**Carbohidratos:** Los carbohidratos, en mayor proporción (65 a 70 % en promedio) es almidón también contienen celulosa y hemicelulosa en un 15 a 20 % en promedio, localizados en la capa periférica. Los azúcares, la mayor proporción está formada por rafinosa y estaquiosa y se conocen como factores de flatulencia, debido a que el organismo humano no las asimila y son metabolizadas por la flora intestinal produciendo grandes cantidades de gases, como CO<sub>2</sub>, hidrógeno y metano en diferentes partes del tracto intestinal, además de otras sustancias volátiles malolientes como amoniaco y aminos. El remojo de los frijoles previo a su cocción reduce gradualmente estos problemas de flatulencia y aumentan la digestibilidad del grano.

**Lípidos:** El contenido de lípidos es muy bajo en las leguminosas y sólo en el caso del frijol soya y el cacahuate los niveles son elevados, siendo el primero

usado a gran escala para la obtención de aceite a nivel industrial, más que para consumo como grano. Los glóbulos de grasa se encuentran insertos entre la red que forman las proteínas y los carbohidratos en cada cotiledón, encontrándose principalmente triglicéridos. Entre los ácidos grasos libres se ha identificado: ácido láurico, palmítico, esteroico, siendo el palmítico el que más se encuentra.

**Vitaminas y minerales:** En general las leguminosas son buenas fuentes de vitaminas del grupo B disponibles en ellas. En cuanto a los minerales son ricos en calcio, hierro y fósforo, su asimilación depende de la acción del ácido fítico, que por su acción inhibitoria reduce un alto porcentaje de su asimilación <sup>(26)</sup>

### **3.9 SOLUCIONES AMORTIGUADORAS** <sup>(13)</sup>

Se les llama también soluciones amortiguadoras, tampón o buffer.

Una solución reguladora consta de una mezcla preparada con un electrolito débil (un ácido o una base) con un soluto que debe ser la sal correspondiente y que se comporta como un electrolito fuerte en un medio acuoso.

Estas soluciones se clasifican en ácidas y básicas. Las primeras consisten en la mezcla de un ácido con una sal que contenga el ion del ácido y las segundas contendrán una base débil con una sal que contenga el catión de la base.

El efecto regulador de estas soluciones depende del valor de la concentración de los componentes de la mezcla que esta disponible para reaccionar ante el

agregado de un ácido o una base fuerte y evitar por neutralización, que varíe demasiado el pH del medio en el cual esta la solución reguladora.

### **3.9. 1 CAPACIDAD AMORTIGUADORA** <sup>(13)</sup>

Se define como el número de moles de un ácido fuerte o de una base fuerte que ocasiona un cambio de 1.00 unidad de pH a 1.00 L de amortiguador. La capacidad de un amortiguador depende no solo de la concentración total de sus componentes, también de su relación de concentraciones. Esta capacidad disminuye con cierta rapidez a medida que la relación del ácido con respecto a la base conjugada se aleja de la unidad. Por esta razón, el  $pK_a$  del ácido seleccionado para un determinado uso, debe de estar dentro de más o menos una unidad del pH deseado para que el amortiguador tenga una capacidad adecuada.

### **3.10 INDICADORES** <sup>(13)</sup>

Un indicador es un ente orgánico, su color depende de la concentración de los iones  $H_3O^+$  o pH en la disolución. Por el color que exhibe un indicador, demuestra la acidez o alcalinidad de una disolución.

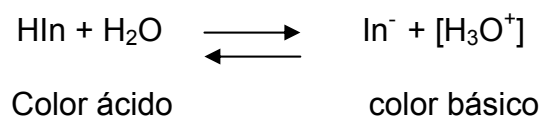
Los primeros indicadores fueron los tintes vegetales como el Tornasol. Actualmente se utilizan indicadores de origen sintético como la fenolftaleína.

Los indicadores de pH no han perdido su importancia para la determinación rápida del punto final en una valoración ácido-base. El indicador muestra un cambio de color de forma tal que visualmente se reconoce el final de la valoración.

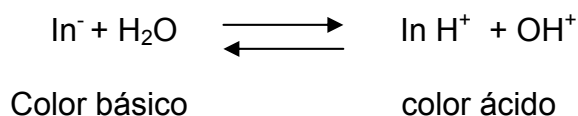
En cada valoración se tiene la tarea de determinar el punto de equivalencia.

Debido a procesos hidrolíticos, el punto de equivalencia no puede concordar siempre con el punto neutro (pH=7), sino que puede estar más en el área ácida o alcalina. Por ello es necesario que se escoja para cada valoración, el indicador correspondiente, de tal forma que el cambio de color del indicador ocurra en el punto de equivalencia del sistema a valorar.

Un indicador ácido-base es un ácido o una base orgánica débil cuya forma no disociada tiene un color diferente al de su forma conjugada. 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.



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

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

Que al reordenarse se obtiene:

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

Como se demuestra 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 contengan una mezcla de  $\text{In}^-$  y  $\text{HIn}$ , en particular cuando la relación:

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

Es mayor que diez o menor que cero punto uno. En consecuencia, para el observador común el color que imparte una solución de un indicador típico parece cambiar rápidamente solo dentro de las relaciones de concentración que están en los límites entre diez y cero punto uno; valores mayores o menores, para el ojo humano el color es prácticamente constante e independiente de esta relación. Se puede afirmar que el indicador promedio  $\text{HIn}$  exhibe su color ácido puro cuando:

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

y su color básico cuando:

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

El color parece ser intermedio para relaciones entre estos dos valores, aunque estas relaciones varían considerable de un indicador a otro además de la capacidad de la persona para diferenciar los colores se puede calcular la

concentración de ión hidronio necesaria para que ocurra un cambio en el color del indicador. Así, para el color completamente ácido

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

y de la manera similar para el color completamente básico  $[\text{H}_3\text{O}^+] = 0.1k_a$

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

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

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

$$\text{Intervalo de pH del indicador} = \text{p}k_a - 1$$

por tanto un indicador con una constante de disociación ácida de  $1 \times 10^{-5}$  ( $\text{p}k_a=5$ ) muestra un típico cambio total de color cuando el pH de la solución en la que está disuelto cambia de cuatro a seis. Se puede obtener fácilmente una relación semejante para un indicador tipo básico entre las variables que influyen el comportamiento de los indicadores están la temperatura, la fuerza iónica del medio y la presencia de disolvente orgánicas y partículas coloidales.

### 3.10.1 APLICACIONES DE LOS INDICADORES <sup>(26)</sup>

Se usan con dos propósitos. Uno de estos es conocer por la coloración, el valor que tiene el pH en soluciones divididas, ya sea de ácidos o bases, de otros, determinar el vire del color y el punto final de una titulación. En el primer caso, la concentración de los iones hidronio depende de cantidad de ácido presente en la solución y el grado de ionización de este así en una solución 0.1N de ácido acético tiene un pH de 2.87 en cambio, una solución 0.1N de un ácido

fuerte, su pH es de 1.00 en la comparación hecha, la concentración de los iones hidronio que están en la solución del ácido débil. En el segundo caso, es necesario determinar teóricamente cual será el pH en el punto estequiométrico (o final), de la titulación, para aplicar el indicador adecuado. Uno de los métodos más utilizados para la determinación colorimétrica del pH, consiste en adicionar una o dos gotas del indicador a la solución del problema el color que aparece, se compara con la gama de colores de una serie de solución ya preparada con una concentración conocida de iones hidronio (solución amortiguadora), la cual, ya tiene el mismo indicador.

### **3.10.2 ERROR DEL INDICADOR** <sup>(26)</sup>

Se basa en la naturaleza ácida o básica de los indicadores y se presenta solamente en soluciones no o levemente tamponadas.

Si el valor tampón de la solución a medir es pequeño, como ocurre por ejemplo, con el agua potable o de río, agua destilada o soluciones salinas neutras altamente diluidas, puede presentarse en casos muy desfavorables desviaciones de hasta una unidad de pH.

El error del indicador se puede evitar parcialmente si se emplea para la medición no el indicador en su forma ácida sino en forma de sal. Además, para la medición de este tipo de soluciones es aconsejable emplear un indicador líquido y no un papel, porque en este último la concentración local de indicador es demasiado elevada. Además en este caso no se puede establecer en un tiempo suficientemente corto el equilibrio del indicador.



### 3.11 HIDRÓLISIS (23) (28)

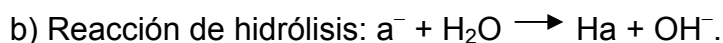
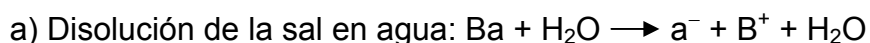
Hidrólisis significa, etimológicamente, descomposición por el agua. Muchas disoluciones de sales neutras, es decir, sales sin hidrógeno y sin grupos hidroxilo ionizables, no son neutras, según podría suponerse.

En estos casos, el agua no se comporta como un verdadero disolvente, sino, además, como reactivo.

En realidad, de acuerdo con la teoría de Brønsted-Lowry, los iones de la sal tienen carácter ácido o básico y, al reaccionar con el agua dan el correspondiente carácter a la disolución.

Hay tres tipos de sales que experimentan la hidrólisis:

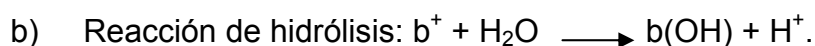
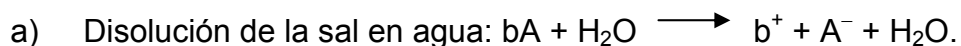
A) Las sales de ácido débil y base fuerte; por ejemplo  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . En general, las designaremos, aquí, con esta simbología: Ba.



Por ser Ha un ácido débil, su base conjugada,  $\text{a}^-$ , tiene carácter básico fuerte y aceptará protones,  $\text{H}^+$ . O, dicho de otro modo: por ser Ha (ácido débil), tiene una constante de ionización muy pequeña, tiene poca tendencia a ionizarse.

En resumen, en la reacción  $\text{a}^- + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{Ha} + \text{OH}^-$  la concentración de  $\text{OH}^-$  es mayor que la de  $\text{H}^+$  correspondiente al producto iónico del agua y la disolución será básica.

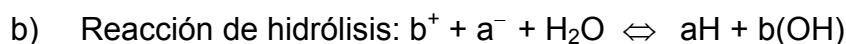
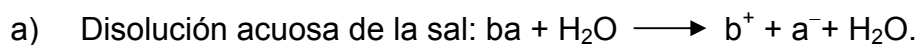
B) Las sales de base débil y ácido fuerte, por ejemplo:  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Aquí las designaremos, genéricamente, como  $\text{bA}$ .



Por ser  $\text{b(OH)}$  base débil, el ión  $\text{b}^+$  tiene carácter ácido relativamente fuerte y aceptará iones  $\text{OH}^-$  para formar la base sin disociar.

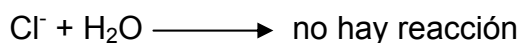
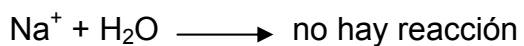
Resultado de esta reacción:  $\text{b}^+ + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{b(OH)} + \text{H}^+$  es que la concentración de protones es mayor que la de  $\text{OH}^-$  correspondiente al producto iónico del agua. La disolución tendrá carácter ácido.

C) Sales de ácido y base débiles ambos, por ejemplo:  $\text{NH}_4\text{NO}_2$ . Abreviadamente las designaremos, aquí, con la simbología  $\text{ba}$ .



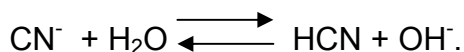
En apariencia, el pH de esta disolución debiera ser neutro, pero, es muy probable que las constantes del ácido y de la base no tengan el mismo valor y, por consiguiente, el pH de la disolución será el que corresponda al más fuerte.

1. Hidrólisis de sal de ácido fuerte-base fuerte como, por ejemplo,  $\text{NaCl}$  ( $\text{Na}^+\text{Cl}^-$ ). Esta sal proviene del  $\text{HCl}$  (ácido fuerte) y del  $\text{NaOH}$  (base fuerte), por tanto  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$ , serán respectivamente débiles.



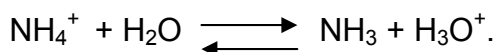
Por tanto el pH será neutro (no sufre hidrólisis ni el catión ni el anión)

2. Hidrólisis de sal de ácido débil-base fuerte como, por ejemplo, NaCN ( $\text{Na}^+\text{CN}^-$ ) Esta sal proviene del HCN (ácido débil) y del NaOH (base fuerte), por tanto  $\text{Na}^+$  será débil y  $\text{CN}^-$  fuerte.



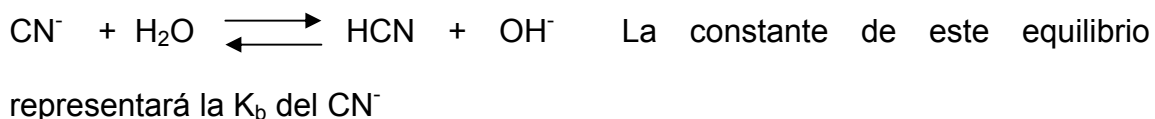
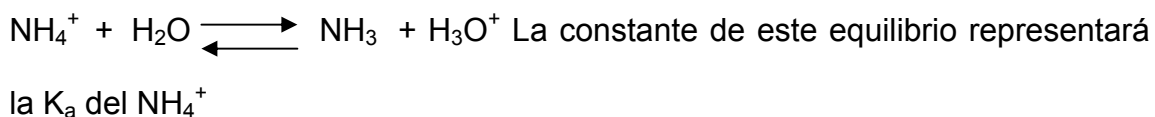
Se generan iones hidroxilo (iones hidróxido), es decir el pH será básico (sufre hidrólisis el anión)

3. Hidrólisis de sal de ácido fuerte-base débil como, por ejemplo,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ( $\text{NH}_4^+\text{Cl}^-$ ) Esta sal proviene del HCl (ácido fuerte) y del  $\text{NH}_3$  (base débil), por tanto  $\text{NH}_4^+$  será fuerte y  $\text{Cl}^-$  será débil.



Se generan iones hidronio (hidroxonio), el pH será ácido (sufre hidrólisis el catión)

4. Hidrólisis de sal de ácido débil-base débil como, por ejemplo,  $\text{NH}_4\text{CN}$  ( $\text{NH}_4^+\text{CN}^-$ ). Esta sal proviene del HCN (ácido débil) y del  $\text{NH}_3$  (base débil), por tanto  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{CN}^-$  serán fuertes.



Si  $K_a > K_b$ , pH ácido; Si  $K_a < K_b$ , pH básico; Si  $K_a = K_b$ , pH neutro

En este caso concreto  $K_a(\text{NH}_4^+) = 5,6 \cdot 10^{-10}$  y  $K_b(\text{CN}^-) = 2,0 \cdot 10^{-5} \rightarrow 2,0 \cdot 10^{-5} > 5,6 \cdot 10^{-10} \rightarrow$  el pH será básico.

### 3.12 ANÁLISIS VOLUMÉTRICO. (13)

Procedimiento para realizar una titulación (Ver Figura No. 8): a) Montaje típico para realizar una titulación, el cual consiste en una bureta, una pinza, un soporte con una base adecuada para observar los cambios de color del indicador, además de un matraz Erlenmeyer de boca ancha que contiene un volumen conocido de la sustancia que se ha de valorar. b) Detalle de las graduaciones de una bureta, esta se llena con la solución de titulante. c) Antes de la titulación, se coloca en el matraz erlenmeyer un volumen conocido de la solución a titular. d) Durante la titulación, el titulante se adiciona al matraz Erlenmeyer, mientras este se agita, hasta que el color del indicador sea persistente. e) Punto final de la titulación. f) Si se añade un exceso de titulante, el color de la solución se intensifica, indicando que el punto final se ha rebasado.

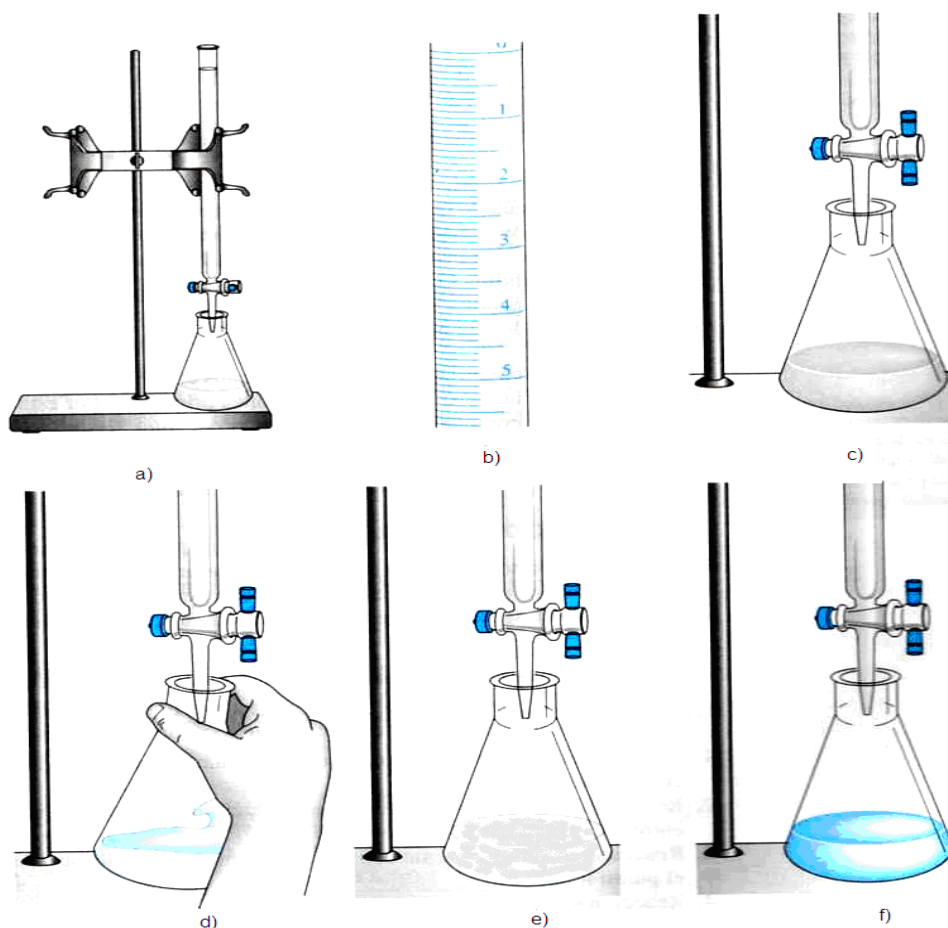


Figura No. 8: Procedimiento para realizar una titulación.

### 3.12.1 TITULACIÓN POR NEUTRALIZACIÓN <sup>(15)</sup>

Una titulación es una reacción que se efectúa entre una sustancia de concentración desconocida y otro de concentración conocida, la reacción debe de ser rápida y cuantitativa. Una de las dos sustancias se coloca en bureta para conocer el volumen en el punto de equivalencia. Este punto se detecta mediante el cambio de color de un indicador que se añade a la solución. El

punto de equivalencia puede ser detectado por el método de las tangentes cuando se traza la curva de pH en función de mL añadidos de titulante.

### **3.12.2 TITULACIÓN DE ÁCIDOS Y BASES.** <sup>(5)</sup>

La titulación es el proceso de determinación de la cantidad de una solución de concentración conocida que se requiere para reaccionar completamente con una cierta cantidad de una muestra que esta analizando. A la muestra que se analiza recibe el nombre de problema. A los procedimientos analíticos basados en la titulación con soluciones de concentración conocida se les llama Análisis Volumétrico.

En el análisis de soluciones ácidas y alcalinas, la titulación implica la medición cuidadosa de los volúmenes de ácido y álcali que se neutralizan entre si.

Supóngase que se tiene una solución de ácido clorhídrico cuya concentración se desea determinar, y que se encuentra con una solución normal de una base con una concentración 1.20 N.

La titulación se efectúa como sigue en dos buretas separadas se colocan porciones de las dos soluciones y en vaso precipitado se mide una cantidad conveniente del ácido, usando la respectiva bureta. De forma alternativa se puede tomar del vaso una cantidad conocida del ácido 15 mL usando una pipeta con un pipeteador. Al ácido se le adiciona un indicador, y el matraz se coloca debajo de la bureta con la base. La base se va adicionando sobre la solución contenida en el erlenmeyer, rápidamente al principio, mas lentamente después, y gota a gota en la ultima etapa, hasta que la ultima gota causa el vire

del indicador. Este vire o cambio de color es la señal que indica que el punto final de la titulación. Al llegar a este punto se ha adicionado una cantidad de base que es equivalente en reactividad química a la de ácido en los 15 mL de solución desconocida. (Suponer que este volumen es 21.2 mL. Esto significa que 21.2 mL de una solución básica 1.20 N neutralizan exactamente 15 mL de ácido clorhídrico cuya concentración se desconoce).

### **3.12.3 CURVAS DE TITULACIÓN.**

#### **3.12.3.1 TITULACIÓN ÁCIDO FUERTE-BASE FUERTE <sup>(15)</sup>**

Para realizar una curva de titulación teórica de una solución de un ácido fuerte 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.

Se calcula la concentración del ácido a partir de su concentración inicial y la cantidad de base que se ha adicionado.

2. En el punto de equivalencia.

Los iones hidrónio e hidróxido están presentes en la misma concentración, y la concentración de los iones hidrónio se calcula directamente de la constante del producto iónico del agua.

3. Después del punto de equivalencia.

#### **3.12.3.2 TITULACIÓN ÁCIDO DÉBIL-BASE FUERTE <sup>(15)</sup>**

Para estas curvas de titulación se necesitan cuatro tipos diferentes de cálculos.

1. Al principio la solución solo contiene un ácido y una base débil, el pH se calcula a partir de las concentraciones de soluto y de su constante de disociación.
2. Después que se han agregado cantidades crecientes de titulante pero que no son equivalentes la solución consiste en una serie de amortiguadores y el pH de cada uno de ellos se pueden calcular de las concentraciones analíticas de la base o ácido conjugado y de las constantes del ácido o base débil.
3. En el punto de equivalencia la solución solo contiene la forma conjugada del ácido o de la base que se esta titulando. Ese par ácido base conjugado es la sal y el pH se calcula la concentración de este producto.
4. Mas allá del punto de equivalencia el exceso de titulante, ya sea, ácido o base fuerte representa el carácter ácido o básico del producto de reacción a tal extremo que el pH esta determinado en gran medida por la concentración del exceso del titulante.

### **3.12.3.3 TITULACIÓN BASE DÉBIL- ÁCIDO FUERTE** <sup>(3)</sup>

Esta curva es una versión invertida de las curvas ácido débil con base fuerte el punto de equivalencia esta en pH ácido, ya que, el producto de neutralización de una base débil es una ácido débil. En este tipo de titulaciones se emplean indicadores que tengan intervalo de transición acida. El pH en el punto final disminuye gradualmente a medida que la constante de ionización toma un valor menor de  $pK_b$ .



#### **3.12.3.4 TITULACIÓN ÁCIDO DÉBIL – BASE DÉBIL Y VICEVERSA <sup>(3)</sup>**

Estas titulaciones ofrecen solo resultados inexactos. En estos casos únicamente son apropiados muy pocos indicadores que deben ser seleccionados para cada caso y donde solamente debería valorarse apoyándose en una solución comparativa.

**CAPITULO IV**  
**DISEÑO METODOLÓGICO**

## 4. DISEÑO METODOLÓGICO

### 4.1 TIPO DE ESTUDIO

Prospectivo, Analítico, Experimental, porque es una investigación a futuro, la cual implica análisis para la obtención de los extractos.

### 4.2 INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA

Se realizaron visitas a biblioteca en:

- Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
- Faculta de Ciencias Agronómica de la Universidad de El Salvador.
- Facultad de Química y Farmacia-Biología de la Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer.
- Facultad de Ciencias Puras y Aplicadas de la Universidad Nueva San Salvador.
- Información presente en Internet.

### 4.3 INVESTIGACIÓN DE CAMPO

Para la obtención de Indicadores Ácido–Base a partir de cáscara de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) de la flora salvadoreña, sé realizo una identificación de la especie a utilizar, para su posterior recolección. El estudio fue analítico prospectivo, para lo cual fue importante seleccionar el Universo Muestral, Tipo de Muestra, Tipo de Muestreo, Puntos de Muestreo y Tamaño de la Muestra.

#### 4.3.1 UNIVERSO MUESTRAL

Comprende la especie *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) presente en El Salvador.

#### **4.3.2 TIPO DE MUESTREO**

El tipo de muestreo utilizado es aleatorio dirigido, ya que, se seleccionará la variedad de frijol negro la cual se encuentre abundante en la época de recolección y a su vez que cumpla con el requisito de ser de la especie *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro).

#### **4.3.3 PUNTOS DE MUESTREO**

Para la selección del punto de muestreo, se tomo la especie de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) en estado fresco y seco, localizada en la zona paracentral (San Vicente) y occidental (Izalco, Sonsonate).

#### **4.3.4 TAMAÑO DE LA MUESTRA**

Se utilizaron 20 gramos de la cáscara de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro), para cada extracción (tanto en maceración como en reflujo) y para cada zona de recolección.

#### **4.4. INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL** <sup>(2) (13) (14)</sup>

Para la investigación experimental se realizaron las siguientes etapas descritas en la Figura No. 9

## ESQUEMA DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN

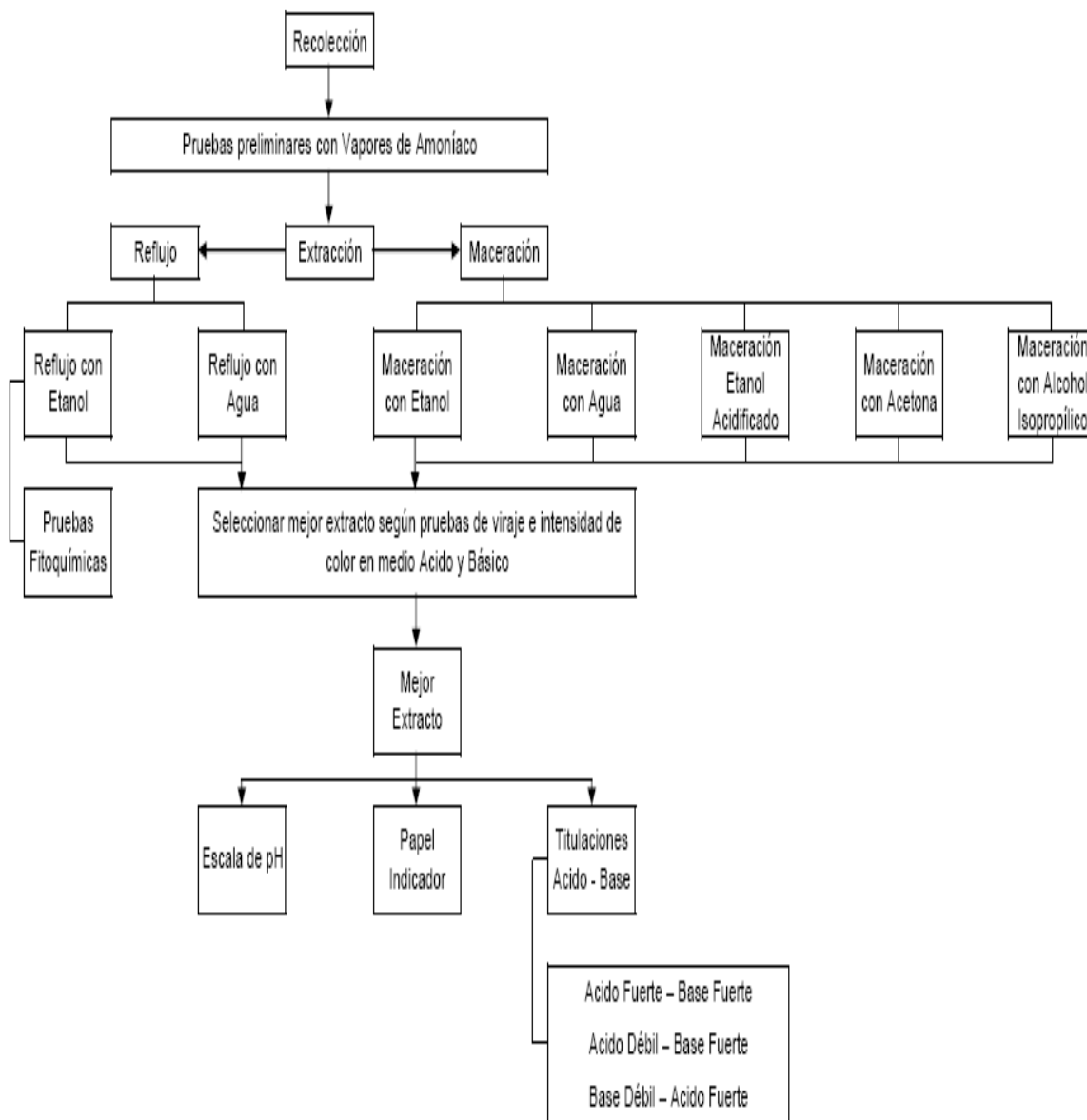


Figura No. 9 Esquema del método de extracción.

#### 4.4.1. FRÍJOL SECO

##### REMOCIÓN DE LA CÁSCARA <sup>(29)</sup>

Se procedió a retirar la cáscara del frijol negro seco, de la siguiente forma:

1. Colocar una cantidad equivalente en peso a 20 gramos de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) en un envase plástico de 500 mL y luego adicionar 250 mL de solvente (acetona, agua, alcohol isopropilico, etanol y etanol acidificado con acido tartárico pH 5). Para los solventes: agua, etanol y etanol acidificado con acido tartárico pH 5 realizar este paso por duplicado, ya que, un envase será para la maceración y el otro para método Soxhlet. (Ver Anexo No. 9, Figura No.37). <sup>(29)</sup>
2. Tapar fuertemente los envases previamente rotulados.
3. Dejar macerar hasta observar el frijol hinchado y que la cáscara sea fácilmente retirable. (Ver Anexo No. 9, Figura No. 38 y 39).
4. Retirar la cáscara y colocarla en un depósito adecuado. Utilizar guantes.(Ver Figura No. 10)



FIGURA No 10. Remoción de la cáscara de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) después del proceso de hinchamiento de la cáscara en la semilla.

5. Dejar secar

#### A. PROCESO DE EXTRACCIÓN. <sup>(29)</sup>

Tomar 20 g de la cáscara de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) para cada una de las ocho extracciones a realizar, las cuales serán:

- a. Reflujo con Agua
- b. Reflujo con Etanol al 96%
- c. Reflujo con Etanol al 96% levemente acidificado con Acido Tartárico
- d. Maceración con Acetona
- e. Maceración con Agua
- f. Maceración con Alcohol Isopropilico
- g. Maceración con Etanol al 96%
- h. Maceración con Etanol al 96% levemente acidificado con Ácido Tartárico.

#### a. Reflujo con agua. <sup>(29)</sup>

Procedimiento general:

1. Armar aparato Soxhlet.

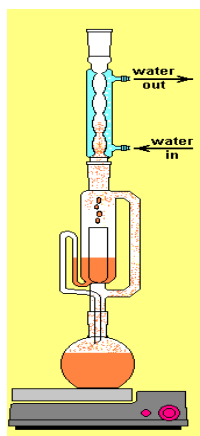


Figura No.11 Equipo Soxhlet. <sup>(22)</sup>

2. Pesar 20 g de la cáscara de *Phaseolus vulgaris* (Fríjol Negro) en balanza granataria (Ver Anexo No. 9, Figura No.40).
3. Colocar la muestra en el cartucho de extracción (dedal) de porosidad media e introducir en el percolador (Ver Figura No. 16) y adicionar en el matraz de destilación 250 mL de Agua destilada (la misma que se utilizo para descascarar a los frijoles secos). <sup>(29)</sup>



Figura No.12 Forma de llenar el percolador

4. Proporcionar calor por medio de un Hot Plate.
5. Dejar refluja por 1 hora (Ver Figura No. 13).

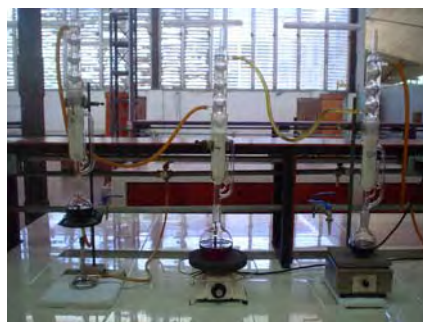


Figura No. 13 Proceso de Extracción mediante Percolación aplicando el Método Soxhlet, para obtener el extracto a partir de *Phaseolus vulgaris* (Fríjol Negro) utilizando como solventes el agua, etanol y etanol acidificado con ácido tartárico pH 5 respectivamente.



6. Recibir el extracto en un vaso de precipitado de 250 mL. (Ver Figura No.14).



Figura No. 14 Filtración de los extractos obtenidos tanto por Maceración como por Reflujo con Soxhlet.

7. Envasar el extracto en un frasco plástico de color blanco de boca ancha.
8. Rotular y almacenar en un lugar fresco y protegido de la luz.

**b. Reflujo con etanol al 96%. <sup>(29)</sup>**

1. Armar aparato Soxhlet (Ver Figura No. 11).
2. Pesar 20 g de la cáscara de *Phaseolus vulgaris* (Fríjol Negro) en balanza granataria (Ver Anexo No. 9, Figura No. 40).
3. Colocar la muestra en el cartucho de extracción (dedal) de porosidad media e introducir en el percolador (Ver Figura No. 12) y adicionar en el matraz de destilación 250 mL de Etanol al 96% (la misma que se utilizo para descascarar a los frijoles secos). <sup>(30)</sup>
4. Proporcionar calor por medio de un Hot Plate.
5. Dejar refluja por 1 hora (Ver Figura No. 13).

6. Recibir el extracto en un vaso de precipitado de 250 mL (Ver Figura No. 14).
7. Envasar el extracto en un frasco plástico de color blanco de boca ancha.
8. Rotular y almacenar en un lugar fresco y protegido de la luz.

**c. Reflujo con etanol al 96% levemente acidificado con ácido tartárico**

**pH 5.** <sup>(29)</sup>

1. Armar aparato Soxhlet (Ver Figura No. 11).
2. Pesar 20 g de la cáscara de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) en balanza granataría (Ver Anexo No. 9, Figura No. 40).
3. Colocar la muestra en el cartucho de extracción (dedal) de porosidad media e introducir en el percolador (Ver Figura No. 12) y adicionar en el matraz de destilación 250 mL de Etanol al 96% levemente acidificado con Ácido Tartárico pH 5 (la misma que se utilizo para descascarar a los frijoles secos). <sup>(29)</sup>
4. Proporcionar calor por medio de un Hot Plate.
5. Dejar reflujo por 1 hora (Ver Figura No. 13).
6. Recibir el extracto en un vaso de precipitado de 250 mL (Ver Figura No.14).
7. Envasar el extracto en un frasco plástico de color blanco de boca ancha.
8. Rotular y almacenar en un lugar fresco y protegido de la luz.

**d. Maceración con acetona.** <sup>(29)</sup>

1. Pesar 20 g de la cáscara de ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro) en balanza granataria (Ver Anexo No. 9, Figura No. 40).
2. Utilizar el mismo solvente (Acetona) contenido en el envase plástico que se utilizo en el proceso de retirar la cáscara a ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro).
3. Tapar el envase y agitar suavemente.
4. Dejar macerar por un tiempo de 24 horas a temperatura ambiente y protegido de la luz. (Ver Figura No. 15) <sup>(29)</sup>
5. Filtrar sobre papel Watman No.3 y recibir el filtrado en un vaso de precipitado de 250 mL (Ver Figura No. 14).
6. Envasar, rotular y almacenar.

**e. Maceración con agua.** <sup>(29)</sup>

1. Pesar 20 g de la cáscara de ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro) en balanza granataria (Ver Anexo No. 9, Figura No. 40).
2. Utilizar el mismo solvente (Agua destilada) contenido en el envase plástico que se utilizo en el proceso de retirar la cáscara a ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro).
3. Tapar el envase y agitar suavemente.
4. Dejar macerar por un tiempo de 24 horas a temperatura ambiente y protegido de la luz. (Ver Figura No. 15) <sup>(29)</sup>



Figura No. 15 Periodo de maceración con la cáscara de *Phaseolus vulgaris* (Fríjol Negro) frente a los diferentes solventes

5. Filtrar sobre papel Watman No.3 y recibir el filtrado en un vaso de precipitado de 250 mL (Ver Figura No.14).
6. Envasar, rotular y almacenar.

**f. Maceración con alcohol Isopropilico.** <sup>(29)</sup>

1. Pesar 20 g de la cáscara de *Phaseolus vulgaris* (Fríjol Negro) en balanza granataria (Ver Anexo No. 9, Figura No. 40).
2. Utilizar el mismo solvente (Alcohol Isopropilico) contenido en el envase plástico que se utilizo en el proceso de retirar la cáscara a *Phaseolus vulgaris* (Fríjol Negro). (Ver Figura No. 16)



Figura No. 16 Adición del solvente a la cáscara de *Phaseolus vulgaris* (Fríjol Negro) contenido en el frasco.

3. Tapar el envase y agitar suavemente.
4. Dejar macerar por un tiempo de 24 horas a temperatura ambiente y protegido de la luz. (Ver Figura No. 15) <sup>(29)</sup>
5. Filtrar sobre papel Watman No.3 y recibir el filtrado en un vaso de precipitado de 250 mL (Ver Figura No. 14).
6. Envasar, rotular y almacenar.

**g. Maceración con Etanol al 96%. <sup>(29)</sup>**

1. Pesar 20 g de la cáscara de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) en balanza granataria (Ver Anexo No. 9, Figura No. 40).
2. Utilizar el mismo solvente (Etanol al 96%) contenido en el envase plástico que se utilizo en el proceso de retirar la cáscara a *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro).
3. Tapar el envase y agitar suavemente.
4. Dejar macerar por un tiempo de 24 horas a temperatura ambiente y protegido de la luz. (Ver Figura No. 15) <sup>(29)</sup>
5. Filtrar sobre papel Watman No.3 y recibir el filtrado en un vaso de precipitado de 250 mL (Ver Figura No. 14).
6. Envasar, rotular y almacenar.

**h. Maceración con Etanol al 96% levemente acidificado con acido tartárico pH 5. <sup>(29)</sup>**

1. Pesar 20 g de la cáscara de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) en balanza granataria (Ver Anexo No. 9, Figura No. 40).

2. Utilizar el mismo solvente (Etanol al 96% levemente acidificado con Acido Tartárico pH 5) contenido en el envase plástico que se utilizo en el proceso de retirar la cáscara a *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro).
3. Tapar el envase y agitar suavemente.
4. Dejar macerar por un tiempo de 24 horas a temperatura ambiente y protegido de la luz. (Ver Figura No. 15) <sup>(29)</sup>
5. Filtrar sobre papel Watman No.3 y recibir el filtrado en un vaso de precipitado de 250 mL (Ver Figura No. 14).
6. Envasar, rotular y almacenar.

#### **4.4.2. FRÍJOL FRESCO** <sup>(29)</sup>

##### **REMOCIÓN DE LA CÁSCARA**

Por ser fríjol fresco, la cáscara es fácilmente removible y no hay necesidad de macerar. <sup>(29)</sup>

##### **PROCESO DE EXTRACCIÓN** <sup>(29)</sup>

Para las extracciones mediante precolación con Soxhlet y Maceración es el mismo procedimiento solamente omitir:

Para extracción con Soxhlet.

El paréntesis final correspondiente al numeral tres del procedimiento general.

## B. PRUEBAS FITOQUÍMICAS PARA IDENTIFICAR TANINOS Y FLAVONOIDES. <sup>(2) (9)</sup>

### TANINOS

Se realizaron las siguientes pruebas:

a) Agua de Bromo. <sup>(9)</sup>

Procedimiento General:

1. En dos tubos de hemólisis colocar, en el primero 2 mL del extracto R.E. de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) en estado Seco y en el segundo 2 mL de R.E. en estado Fresco y añadir a cada tubo, tres gotas de Agua de Bromo 2%. No se observa precipitado. <sup>(2) (13)</sup>

b) Cloruro Férrico. <sup>(9)</sup>

Procedimiento general:

1. En dos tubos de hemólisis colocar, en el primero 2 mL del extracto R.E. de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) en estado Seco y en el segundo 2 mL de R.E. en estado Fresco y añadir a cada tubo, tres gotas de Cloruro Ferrico 5%. Observar una coloración negra. <sup>(2), (13)</sup>

d) Dicromato de Potasio. <sup>(9)</sup>

Procedimiento general:

1. En dos tubos de hemólisis colocar, en el primero 2 mL del extracto R.E. de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) en estado Seco y en el segundo 2 mL de R.E. en estado Fresco y añadir a cada tubo, 2 mL de Dicromato de Potasio. Observar un precipitado. <sup>(2) (13)</sup>

e) Solución de Gelatina. <sup>(9)</sup>

Procedimiento general:

1. En dos tubos de hemólisis colocar, en el primero 2 mL del extracto R.E. de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) en estado Seco y en el segundo 2 mL de R.E. en estado Fresco y añadir a cada tubo, 2 mL de solución de Gelatina al 2%. Observar un anillo color morado.

f) Subacetato de Plomo. <sup>(9)</sup>

Procedimiento general:

1. En dos tubos de hemólisis colocar, en el primero 2 mL del extracto R.E. de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) en estado Seco y en el segundo 2 mL de R.E. en estado Fresco y añadir a cada tubo, 2 mL de solución de Subacetato de Plomo 5%. Observar la formación de un precipitado blanco.

**FLAVONOIDES:**

a) Prueba de Shinoda o de la Cianidina. <sup>(2) (9)</sup>

Procedimiento general:

1. Tomar 10 mL de los extractos R.E. de *Phaseolus vulgaris* (Frijol negro) en estado Seco y R.E. en estado Fresco y concentrar hasta 5 mL, a dicho concentrado adicionar un pedazo de Magnesio metálico y 1 mL de Acido Clorhídrico concentrado. Se desarrolla una coloración roja intensa. <sup>(2) (13)</sup>



b) Vapor de amoníaco. <sup>(9)</sup>

Procedimiento general:

Exponer a vapores de Amoníaco la cáscara tanto fresco como seco de ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro) de la siguiente forma:

Realizar esta prueba en cámara de extracción de gases.

1. Medir 10 mL de de Amoníaco con una probeta de 10 mL y adicionarlo a un beaker de 50 mL.
2. Colocar 1.0 g de cáscaras de ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro) en un colador plástico, cuyo diámetro sea igual que el vaso de precipitado.
3. Cubrir las cáscaras de ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro) con un vidrio de reloj.
4. Dejar en la cámara de extracción y dejarlos por quince minutos.
5. Observar coloración. <sup>(2) (13)</sup>

c) NaOH. <sup>(2) (9)</sup>

Procedimiento general:

1. Tomar 10 mL de los extractos R.E. de ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro) en estado Seco y R.E. en estado Fresco y concentrar hasta 5 mL y adicionar 1 mL de NaOH. Observar coloración verde.

## **C. ESCALA DE pH.**

### **a. PRUEBA PRESUNTIVA.** <sup>(29)</sup>

Se realizara para observar la intensidad en el viaje de color de cada uno de los extractos obtenidos frente a una solución ácida y básica.

Procedimiento:

1. Transferir 5 mL de Ácido Clorhídrico 0.1M a un set de ocho vasos de precipitado de 10 mL, rotulados respectivamente según el extracto.
2. Transferir 5 mL de Hidróxido de Sodio 0.1M a un segundo set de ocho vasos de precipitados de 10 mL, rotulados respectivamente según el extracto.
3. Medir y transferir 1.0 mL de cada uno de los ocho extracto mediante una pipeta volumétrica de 1.0 mL a cada uno de los vasos de precipitados que contiene la solución de Ácido Clorhídrico 0.1M e Hidróxido de Sodio 0.1M respectivamente.
4. Observar la intensidad y viraje de color en cada una de las soluciones.

Luego de observar el viraje y la intensidad de la prueba anterior, se procedió a la elaboración de la escala de pH.

### **b. ESCALA DE pH.** <sup>(29)</sup>

Procedimiento:

1. Preparar la solución Buffer a diferentes pH (1-13).

2. Medir y transferir 5.0 mL de cada solución Buffer por medio de una pipeta volumétrica de 5.0 mL a un set de trece tubos de ensayo con tapón de rosca, respectivamente rotulados del 1 al 13. Tanto para frijol Seco como para frijol Fresco.
3. Adicionar 1.0 mL el extracto etanolico (R.E.) de ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro) con pipeta volumétrica de 1.0 mL a cada uno de los tubos de ensayo que contienen la solución Buffer a diferentes pH.
4. Tapar, agitar y dejar reposar por cinco segundos.
5. Colocar los set de trece tubos de ensayo frente a una lámpara de luz blanca y observar el viraje de color frente a diferentes valores de pH (Figura No. 24 y 25).

#### **D. PAPEL INDICADOR.** <sup>(29)</sup>

Para llevar a cabo la elaboración del papel indicador a partir de ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro), utilizaron los mismos extractos empleados para la prueba de la escala de pH, es decir, R.E. Dicha prueba se realizó de la siguiente forma:

1. Recortar tiras de papel Watman No. 3 con 0.5 cm de ancho y 5.0 cm de largo.
2. Transferir a un vaso de precipitado de 100mL, 25 mL del extracto R.E. de ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro)

3. Colocar aproximadamente quince tiras de papel filtro dentro del vaso de precipitado, dejar impregnar por una hora. (Ver Figura No. 17)



FIGURA No. 17 Proceso de elaboración de Papel Indicador.

4. Sacar las tiras impregnadas del papel filtro y dejarlas secar sobre un vidrio de reloj a temperatura ambiente (Ver Figura No. 25).

Para comprobar el funcionamiento del papel indicador, se realizó un ensayo que se describe a continuación: <sup>(29)</sup>

- 1) Colocar tres tiras del papel indicador sobre un vidrio de reloj de 10 cm. de diámetro.
- 2) Adicionar una gota de Ácido Clorhídrico 0.1M, sobre el papel indicador No. 1 y observar el viraje de color.
- 3) Usar como referencia al papel indicador No. 2.
- 4) Adicionar una gota de Hidróxido de Sodio 0.1M, sobre el papel indicador No. 3 y observar el viraje de color (Ver Figura No. 26).

Finalmente para comprobar el funcionamiento del indicador a partir de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro), se realizaron una serie de titulaciones ácido base, las cuales se describen a continuación:

#### **E. TITULACIONES ACIDO BASE.** <sup>(10)</sup>

##### **a) Titulaciones Ácido Fuerte (HCl 0.1M) vrs Base Fuerte (NaOH 0. 1M)** <sup>(10)</sup>

Procedimiento general:

1. Llenar la bureta de 25.0 mL con Hidróxido de Sodio 0.1M
2. Transferir 20.0 mL de Ácido Clorhídrico 0.1M por medio de una pipeta volumétrica de 20.0 mL a un beaker de 400 mL.
3. Introducir el electrodo de vidrio de calomel.
4. Adicionar 1.0 mL del extracto R.E. de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro), por medio de una pipeta volumétrica de 1.0 mL y agitar magnéticamente.
5. Tomar lectura del pH inicial.
6. Titular en volúmenes fraccionados de 5.0 mL hasta un volumen de 5.0 mL, luego seguir titulando con volúmenes de 0.5 mL hasta completar un volumen total de 20.0 mL, observar el viraje de color y valor específico de pH en cada adición de titulante.

##### **B) Titulaciones Ácido Débil (CH<sub>3</sub>COOH 0.1M) vrs Base Fuerte (NaOH 0.1M)** <sup>(10)</sup>

Procedimiento general:

1. Llenar la bureta de 25.0 mL con Hidróxido de Sodio 0.1M

2. Transferir 20.0 mL de Ácido Acético 0.1M por medio de una pipeta volumétrica de 20.0 mL a un vaso de precipitado de 400 mL.
3. Introducir el electrodo de vidrio de calomel.
4. Adicionar 1.0 mL del extracto R.E. de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro), por medio de una pipeta volumétrica de 1.0 mL y agitar magnéticamente.
5. Tomar lectura del pH inicial.
6. Titular en volúmenes fraccionados de 5.0 mL hasta un volumen de 5.0 mL, luego seguir titulando con volúmenes de 0.5 mL hasta completar un volumen total de 20.0 mL, observar el viraje de color y valor específico de pH en cada adición de titulante.

### **C) Titulaciones Base Débil ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 0.1M) vrs Ácido Fuerte (NaOH 0.1M) <sup>(10)</sup>**

Procedimiento general:

1. Llenar la bureta de 25.0 mL con Hidróxido de Sodio 0.1M
2. Transferir 20.0 mL de Carbonato de Sodio 0.1M por medio de una pipeta volumétrica de 20.0 mL a un vaso de precipitado de 400 mL.
3. Introducir el electrodo de vidrio de calomel.
4. Adicionar 1.0 mL del extracto R.E. de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro), por medio de una pipeta volumétrica de 1.0 mL y agitar magnéticamente.

5. Tomar lectura del pH inicial.
6. Titular en volúmenes fraccionados de 5.0 mL hasta un volumen de 5.0 mL, luego seguir titulando con volúmenes de 0.5 mL hasta completar un volumen total de 20.0 mL, observar el viraje de color y valor específico de pH en cada adición de titulante.

#### **PRUEBA DE ESTABILIDAD FÍSICA APARENTE.** <sup>(29)</sup>

Esta prueba permite evidenciar de que manera las características físicas, y microbiológicas del extracto, varían con el tiempo, bajo la influencia de temperatura, humedad y luz, estableciendo las condiciones de almacenamiento adecuadas y el período de utilidad para el extracto de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro). <sup>(29)</sup>

Además dicho estudio asegura que el extracto de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) cumpla con determinados parámetros de calidad y pureza que evitaren resultados falso positivos en el momento de utilizarlo como indicador.

Esta prueba consistió en observar a los extractos obtenidos a partir de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro), en su estado Seco y Fresco, por un periodo de cuatro meses.

Se realizó un estudio de Estabilidad acelerada con un periodo mínimo de cuatro meses con frecuencia de análisis cada semana hasta completar los cuatro meses.

En condiciones normales de almacenamiento el extracto se trató de la siguiente forma: <sup>(29)</sup>

Humedad Relativa no mayor de 65 %, temperatura ambiente (20-30 °C), al abrigo de luz normal, libre de olores extraños u otras formas de contaminación.

Semanalmente se revisaron los extractos para observar alguna alteración física y microbiológica.

Se consideran cambios significativos:

Pérdida de la actividad indicadora, la cual se determina titulando

Cambios de pH

Cambios en sus propiedades físicas como apariencia, color, separación de fases, turbidez, malos olores, etc.

Crecimiento de microorganismo

Con el estudio de estabilidad bajo las condiciones estipuladas los resultados son satisfactorios, por lo cual se le otorgo una vida útil tentativa de cuatro meses.



**CAPITULO V**  
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

## 5.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### A. PROCESO DE EXTRACCIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE INDICADORES ÁCIDO-BASE. <sup>(29)</sup>

Para la realización de un método de extracción para la obtención de indicadores ácido-base, utilizando como solventes: acetona, agua, alcohol isopropílico, etanol al 96% y etanol 96% levemente acidificado con ácido tartárico (pH 5), utilizando el percolador Soxhlet (Ver Figura No. 11) y a la Maceración como método de extracción; dando como resultado ocho extractos diferentes cuyas intensidades de color varían según la siguiente figura (Ver Figura No. 18 y Figura No. 19):



FIGURA No. 18. Extracto obtenidos con diferentes solventes: M.Ac., M.A., M.E., M.E.A., M.IPA., R.A., R.E., R.E.A. de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) en estado Fresco.



FIGURA No. 19. Extracto obtenidos con diferentes solventes: M.Ac., M.A., M.E., M.E.A., M.IPA., R.A., R.E., R.E.A. de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) en estado Seco.

CUADRO No 3. Extractos de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) e intensidad de coloración obtenidos. <sup>(29)</sup>

EXTRACTO	COLORACIÓN DEL EXTRACTO
Reflujo con Agua	Café
Reflujo con Etanol al 96%	Violeta transparente
Reflujo con Etanol al 96% levemente Acidificado con ácido tartárico (pH 5)	Violeta Oscuro
Maceración con Agua	Café
Maceración con Acetona	Amarillo
Maceración con Alcohol Isopropílico	Amarillo muy tenue
Maceración con Etanol	Violeta transparente
Maceración Etanol al 96% levemente Acidificado con ácido tartárico (pH 5)	Violeta Oscuro

Los ocho extractos obtenidos con diferentes solventes presentaron distintas intensidades de color, siendo los extractos obtenidos por reflujo con Etanol 96% y Etanol 96% levemente acidificado con Ácido Tartárico (pH 5) los que más intensidad de color presentaron, pero se eligió el extracto etanólico por reflujo (R.E.), tanto en estado Seco como en estado Fresco. <sup>(30)</sup>

En el momento de la filtración para cada una de las extracciones, se pudo observar que para el reflujo con etanol al 96% (R.E.) las cáscaras de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) presentaron mayor decoloración, no así para las cáscaras de las restantes extracciones, esto es debido a que las

antocianinas presentan mayor solubilidad con el etanol que con el resto de los solventes. <sup>(29)</sup>

**B. PRUEBAS FITOQUÍMICAS PARA IDENTIFICAR TANINOS Y FLAVONOIDES PRESENTES EN LA CÁSCARA DE *Phaseolus vulgaris* (FRÍJOL NEGRO), OBTENIDO POR EL MÉTODO DEL PERCOLACIÓN SOXHLET.** <sup>(2) (9)</sup>

**PRUEBAS FITOQUÍMICAS** <sup>(9)</sup>

Para llevar a cabo la realización de ensayos fitoquímicos a partir del extracto etanólico (R.E.) de la cáscara de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro), en estado Seco y estado Fresco se hizo uso de diferentes reactivos químicos que comprobaron de forma cualitativa la presencia o ausencia de ciertas sustancias fitoquímicas; de interés para este estudio como lo fueron los Taninos, Flavonoides y dentro de estos las Antocianinas. <sup>(2) (13)</sup>

Los resultados obtenidos para *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro), son los siguientes: (Ver Figura No.20 y Figura No. 21)

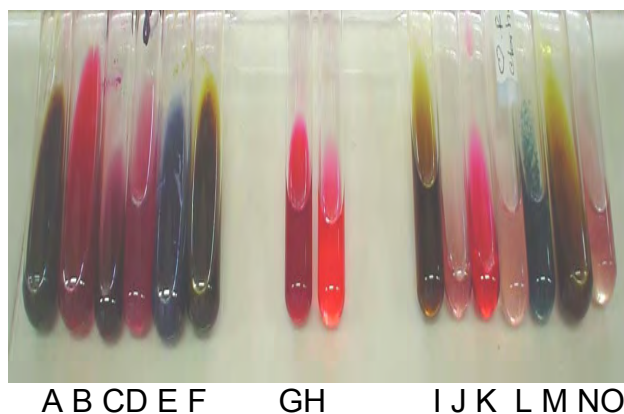


FIGURA No. 20. Resultados obtenidos de los ensayos fitoquímicos de los extractos R.E. de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) en estado Seco. <sup>(2)</sup> <sup>(13)</sup> Donde A: Prueba con  $\text{FeCl}_3$ ; B: Agua de bromo; C: Gelatina al 10%; D: Dicromato de Potasio; E: NaOH; F: Subacetato de Plomo; G: Shinoda, utilizando el extracto etanólico (R.E.) y los tubos restantes H, I J, K L, M, N, O son las mismas pruebas con el extracto etanólico acidificado (R.E.A.) para fines comparativos



FIGURA No. 21. Resultados obtenidos de los ensayos fitoquímicos de los extractos R.E. de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) en estado Fresco. <sup>(2)</sup> <sup>(13)</sup> Donde A: Prueba con  $\text{FeCl}_3$ ; B: Agua de bromo; C: Gelatina al 10%; D: Dicromato de Potasio; E: NaOH; F: Subacetato de Plomo; G: Shinoda, utilizando el extracto etanólico (R.E.) y los tubos restantes H, I J, K L, M, N, O son las mismas pruebas con el extracto etanólico acidificado (R.E.A.) para fines comparativos

CUADRO No 4. Resultados de Pruebas Fitoquímicas de los Extractos que presentaron mayor intensidad de coloración (Etanol 96% y Etanol al 96% levemente acidificado con Ácido Tartárico pH 5).<sup>(9)</sup>

SUSTANCIA FITOQUIMICA	PRUEBA	RESULTADO ESPERADO		RESULTADO OBSERVADO
		R.E.	R.E.A.	
TANINOS	Agua de Bromo	Coloración roja	Coloración roja	+
	Cloruro de Hierro	Café negrusco	Azul negrusco	+
	Dicromato de Potasio	Café verdoso	Café verdoso	+
	Solución de Gelatina	Anillo morado	Anillo morado intenso	+
	Subacetato de Plomo	Precipitado	Precipitado	+
FLAVONOIDES	Shinoda o Cianidina	Rojo	Rojo cereza	+
	NaOH	Coloración verde	Coloración verde	+
	Vapor de Amoniaco	Coloración amarilla	Coloración amarilla	+

+ = positivo<sup>(2) (13)</sup>

Por medio de los resultados obtenidos de las pruebas fitoquímicas realizadas a los extractos etanolicos 96% (R.E.) de la cáscara de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro), en su estado fresco y seco se logro determinar la presencia de

Glucósidos Flavonoides y Taninos ya que todas las pruebas para su determinación dieron resultados positivos. <sup>(2) (13)</sup>

### C. ELABORACIÓN DE UNA ESCALA DE pH A PARTIR DE LOS EXTRACTOS OBTENIDOS. <sup>(29)</sup>

#### a) PRUEBA DE VIRAJE DE COLOR. <sup>(29)</sup>

Para la elaboración de la escala de pH de los extractos obtenidos de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro), fue necesario llevar a cabo una prueba preliminar con el fin de observar el viraje de color y la intensidad de cada una de las extracciones frente a soluciones ácidas y básicas de forma respectivas; obteniéndose como resultado que en un medio ácido (HCl 0.1M) la formación de coloración roja y en medio básico (NaOH 0.1M) la formación de coloración verde, como se muestra en la siguiente figura (Ver Figura No. 22 y Figura No. 23)



FIGURA No. 22 Viraje e intensidad de coloración del Extracto de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) en estado Seco ante Ácido Clorhídrico 0.1M e Hidróxido de Sodio 0.1M respectivamente.



FIGURA No. 23 Extractos de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) en estado Fresco, seleccionados por su mayor intensidad de coloración frente a Ácido Clorhídrico 0.1M e Hidróxido de Sodio 0.1M respectivamente. <sup>(30)</sup>

La intensidad de coloración en cada uno de los extractos de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) frente a Ácido Clorhídrico 0.1M e Hidróxido de Sodio 0.1M varía según el siguiente cuadro: <sup>(29)</sup>

CUADRO No 5. Extractos obtenidos de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) frente a Ácido Clorhídrico 0.1M e Hidróxido de Sodio 0.1M <sup>(29)</sup>

EXTRACTO	EN MEDIO ACIDO (HCl 0.1M)	EN MEDIO BASICO (NaOH 0.1M)
Reflujo con Agua	Rojo	Verde musgo tenue
Reflujo con Etanol al 96%	Rojo fuerte	Verde musgo
Reflujo con Etanol al 96% levemente Acidificado con ácido tartárico (pH 5)	Rojo intenso	Verde musgo intenso
Maceración con Agua	Rojo	Café verduco
Maceración con Acetona	Rosado	Verde tenue
Maceración con Alcohol Isopropilico	Rosado tenue	Verde amarillento
Maceración con Etanol 96%	Rojo fuerte	Verde musgo
Maceración con Etanol al 96% levemente Acidificado con ácido tartárico (pH 5)	Rojo intenso	Verde musgo intenso



Al observar el viraje y la intensidad de color de cada una de los extractos de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro), frente una solución ácida y básica, pudo observarse que para el extracto obtenido por reflujo etanólico (R.E.) la intensidad en el viraje de color fue mayor en comparación con el resto de los extractos, se debe a que las antocianinas son mas solubles en el etanol, por lo que hay una concentración mayor de antocianinas que en el resto de solventes.

#### b) ESCALA DE pH. <sup>(29)</sup>

Una vez observado el viraje y la intensidad de color de la prueba preliminar se elaboró una Escala de pH partiendo del extracto etanólico de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro), en estado Seco y Fresco cuyos resultados se detallan en la siguiente figura (Ver Figura No. 24 y Figura No. 25):

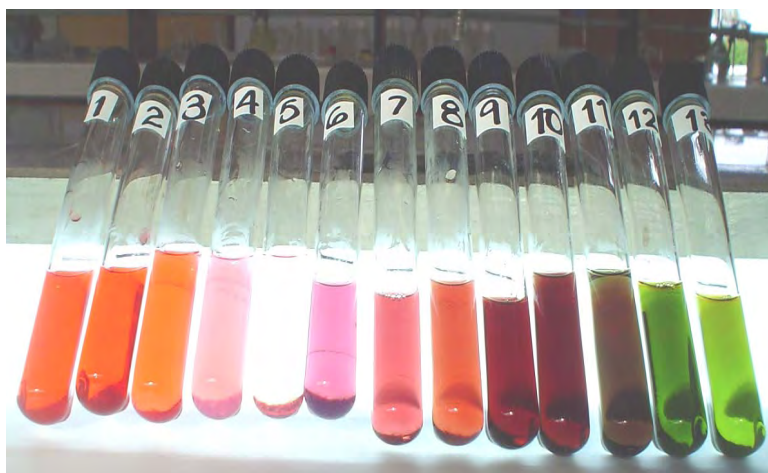


FIGURA No. 24 Escala de pH obtenido con el extracto de (R.E.) de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) en estado Seco.

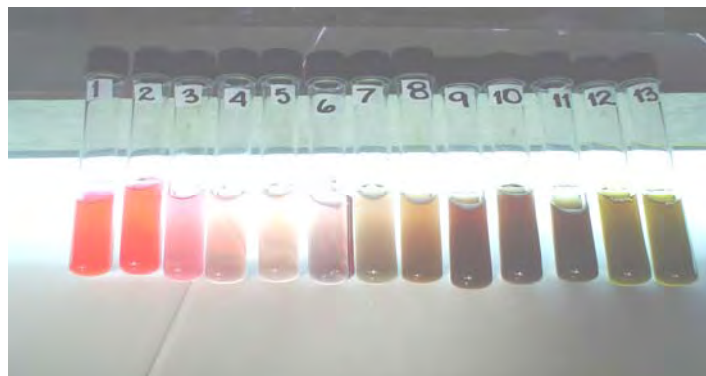


FIGURA No. 25 Escala de pH obtenido con el extracto (R.E.) *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) en estado Fresco.

CUADRO No 6. Variación de color frente a distintos valores de pH del extracto etanólico (R.E.) de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro). <sup>(29)</sup>

pH	COLORACION
1	Rojo
2	Rojo
3	Rojo tenue
4	Rosado
5	Rosado tenue
6	Violeta
7	Violeta tenue
8	Violeta cafésoso
9	Café
10	Café
11	Café verdoso
12	Verde
13	Verde

A diferentes valores de pH se pudo observar la variación de color del extracto de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro), en pH ácido el color rojo, en pH neutro

mantiene un color violeta y en pH básico el color que predomina es el verde, este comportamiento se debe a la inestabilidad del ión flavilio a diferentes valores de pH. (29)

### ELABORACIÓN DE PAPEL INDICADOR. (29)

Para la elaboración de papel indicador de *Phaseolus vulgaris* (Fríjol Negro), el extracto utilizado fue el obtenido por reflujo etanólico 96% (R.E.) dando como resultado la obtención de papel indicador color violeta como (Ver Figura No. 26):

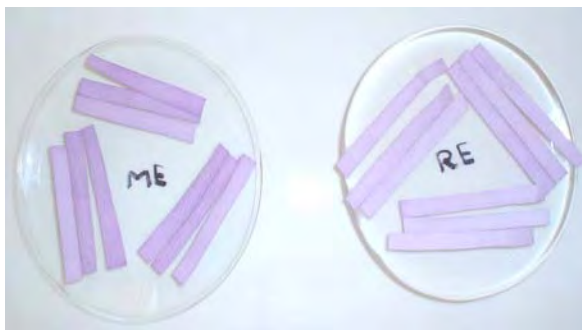


FIGURA No. 26 Papel Indicador obtenido del extracto M.E y R.E. en proceso de secado. (29)

Para comprobar la acción indicadora del papel recién elaborado fue necesario la adición de una sustancia ácida como el HCl 0.1M y como solución básica el NaOH 0.1M, con el fin de observar el viraje de color que presenta dicho papel frente a la respectiva sustancia. El resultado obtenido se observa en la Figura No. 27.

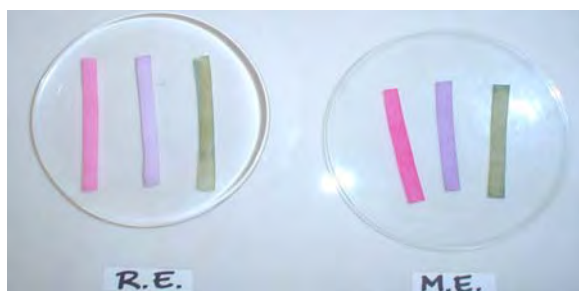


FIGURA No. 27 Viraje de color del papel Indicador obtenido de *Phaseolus vulgaris* (Fríjol Negro) frente a un ácido y una base. <sup>(29)</sup>

CUADRO No 7. Comportamiento del papel Indicador obtenido de *Phaseolu vulgaris* (Fríjol Negro) en el extracto etanólico (R.E.) frente a un ácido y una base. <sup>(29)</sup>

Papel Indicador elaborado de los Extractos R.E. y R.E.A. de <i>Phaseolus vulgaris</i> (Fríjol Negro)		
Viraje de color en presencia de HCl 0.1M	Papel indicador Patrón de <i>Phaseolus Vulgaris</i> (Fríjol Negro)	Viraje de color en presencia de NaOH 0.1M
Coloración rosado	Coloración violeta	Coloración verde

Durante la elaboración de Papel Indicador se observó que el papel filtro utilizado (Watman No. 3), logro absorber fácilmente el color del extracto etanólico de *Phaseolus vulgaris* (Fríjol Negro), aunque en el proceso de secado se pudo observar que el color en cada tira de papel indicador obtenido no era totalmente uniforme. <sup>(29)</sup>

La variación de color del papel indicador frente a una solución ácida y básica, permite comprobar el comportamiento de Indicador Ácido-Base del extracto de *Phaseolus vulgaris* (Fríjol Negro) <sup>(29)</sup>

### E. DETERMINACIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DE LA ACIDEZ Y ALCALINIDAD DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *Phaseolus vulgaris* (FRÍJOL NEGRO). <sup>(8) (10)</sup>

#### a) Titulaciones Ácido Fuerte (HCl 0.1M) vrs Base Fuerte (NaOH 0.1M)

En el proceso de Titulación se observó la coloración roja antes de la titulación y tomo un cambio en el viraje de color el cual varía conforme a la adición de reactivo titulante hasta completar el volumen de neutralización, en donde se obtiene una coloración verde musgo tenue el cual se observa en la Figura No. 28.

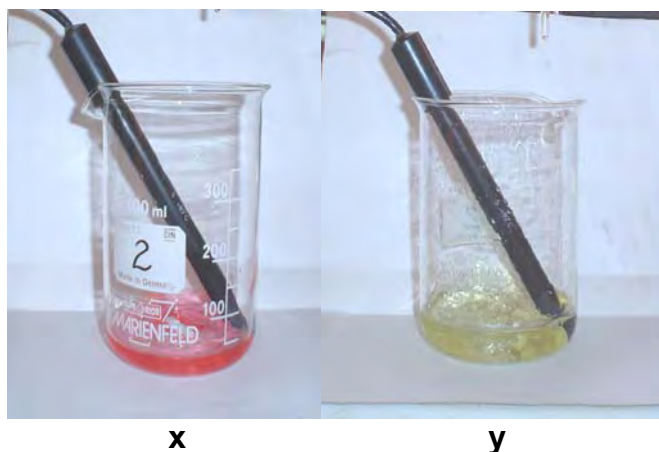


FIGURA No. 28

x: Ácido Clorhídrico 0.1M y Extracto Etanólico de *Phaseolus vulgaris* (Fríjol Negro) antes de la Titulación

y: Coloración de Punto Final de A con Hidróxido de Sodio 0.1M

Cuadro No.8 Valores de pH y su coloración en la Titulación Ácido Fuerte-Base Fuerte de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro).

VOLUMEN (mL)	pH	COLOR
0.0	1.98	Rojo
5.0	2.21	Rojo cereza
10.0	2.50	Rosa
15.0	2.60	Rosa tenue
15.5	2.68	Rosa tenue
16.0	2.80	Rosa tenue
16.5	2.87	Rosa tenue
17.0	2.95	Rosa tenue
17.5	3.20	Rosa tenue
18.0	3.36	Rosa tenue
18.5	3.50	Rosa tenue
19.0	4.15	Rosa amarillento
19.5	6.18	Amarillo verdusco
20.0	9.44	Verdusco

#### 19.5 Determinación del Punto Final

El viraje de color observado claramente a un volumen de 19.5 mL con un pH=6.18, determina el punto final en la Titulación, con una serie de cálculos se logra graficar  $\Delta^2 \text{ pH} / \Delta^2 V$  vrs Volumen (mL) obteniéndose el Punto de Equivalencia igual a **19.5mL**, que puede variar en un rango de **18.8 mL-19.7mL**, en donde las moléculas del analito han reaccionado químicamente con las moléculas del titulante, determinándose así la cercanía del Punto Final al Punto de Equivalencia. <sup>(8)</sup><sub>(10)</sub>

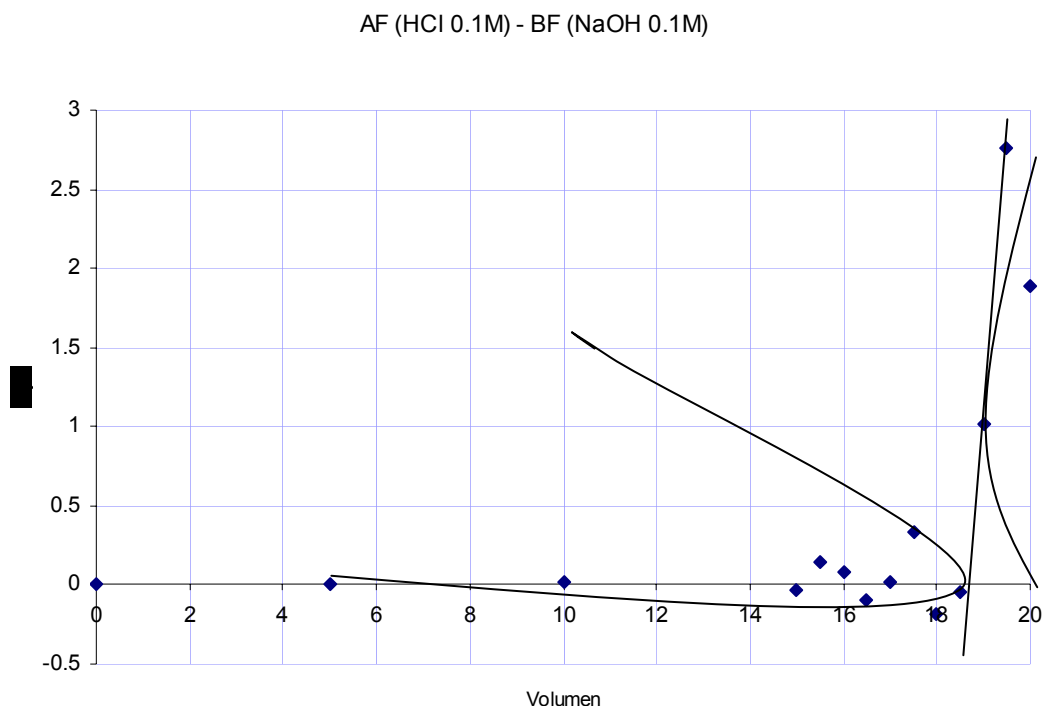


FIGURA No. 29 Grafico de la Titulación potenciométrica de Ácido Fuerte-Base Fuerte, utilizando como indicador ácido-base el extracto etanólico de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro). <sup>(8)</sup> <sup>(10)</sup>

La grafica anterior demuestra el intercepto en 19.2, este valor representa el punto de equivalencia, el cual es un valor muy cercano al que se obtuvo en el punto final midiéndolo con el electrodo de Calomel. (Ver cálculos para elaborar la grafica en Anexo No. 3).

**b) Titulaciones Ácido Débil (CH<sub>3</sub>COOH 0.1M) vrs Base Fuerte (NaOH 0.1M)** <sup>(8)</sup> <sup>(10)</sup>

En el proceso de Titulación se observó la coloración rojo tenue antes de la titulación y tomo un cambio en el viraje de color que va variando conforme a la adición de reactivo titulante hasta completar el volumen de neutralización, en

donde se obtiene una coloración verde tenue lo cual se observa en la Figura No. 30.

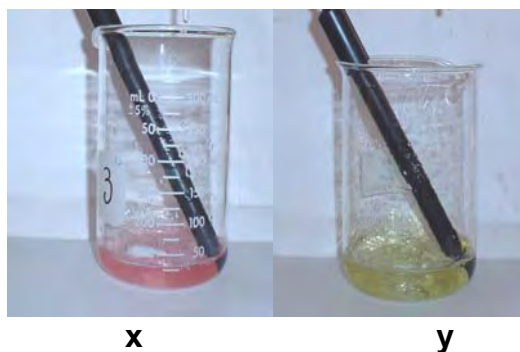


FIGURA No. 30

x: Ácido Acético 0.1M y Extracto Etanólico de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) antes de la Titulación.

y: Coloración de Punto Final de A con Hidróxido de Sodio 0.1M

Cuadro No. 9 Valores de pH y su coloración en la Titulación Ácido Débil-Base Fuerte de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro).

VOLUMEN (mL)	pH	COLOR
0.0	3.12	Rosa tenue
5.0	4.22	Rosa tenue
10.0	4.77	Rosa muy tenue
15.0	5.25	Rosa muy tenue
15.5	5.32	Rosa muy tenue
16.0	5.38	Rosa muy tenue
16.5	5.45	Rosa muy tenue
17.0	5.55	Rosa muy tenue
17.5	5.65	Rosa muy tenue
18.0	5.79	Incoloro
18.5	5.99	Amarillo muy tenue
19.0	6.34	Amarillo muy tenue
19.5	7.93	Verde tenue
20.0	9.52	Verde tenue



El viraje de color observado claramente a un volumen de 18.5 mL con un pH=5.99, determina el punto final en la Titulación, con una serie de cálculos se logra graficar  $\Delta^2 \text{ pH} / \Delta^2 V$  vs Volumen (mL) obteniéndose el Punto de Equivalencia igual a **18.75mL**, que puede variar en un rango de **18.5 mL – 19.7mL**, en donde las moléculas del analito han reaccionado químicamente con las moléculas del titulante, determinándose así la cercanía del Punto Final al Punto de Equivalencia. <sup>(8) (10)</sup>

AD (CH<sub>3</sub>COOH 0.1M) - BF (NaOH 0.1M)

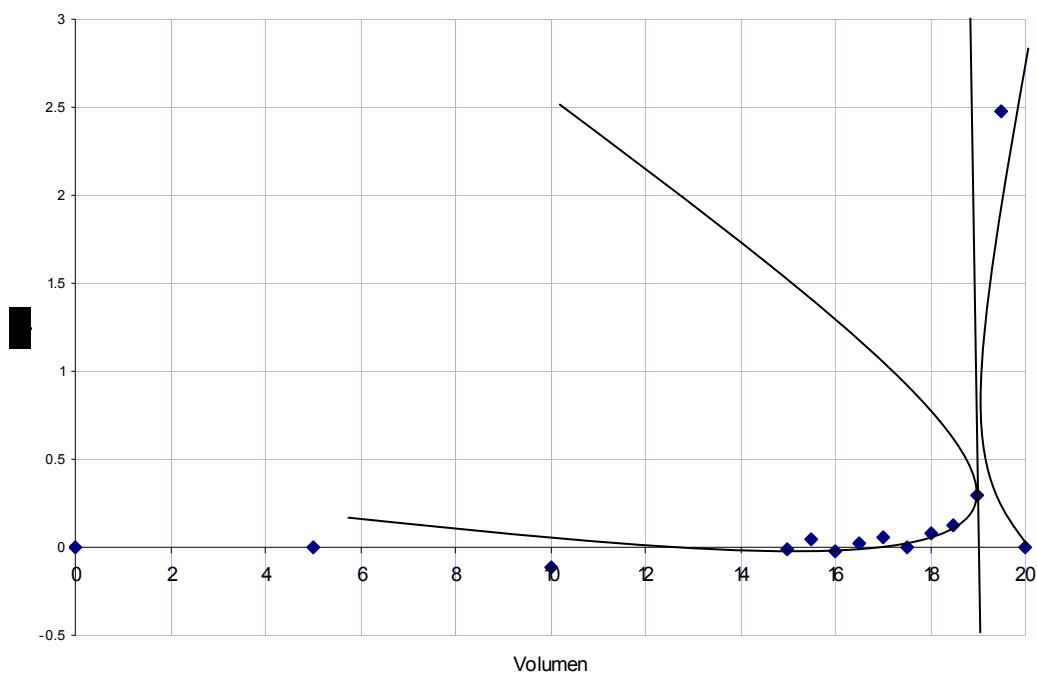


FIGURA No. 31 Grafico de la Titulación potenciométrica de Ácido Débil-Base Fuerte, utilizando como indicador ácido-base el extracto etanólico de *Phaseolus vulgaris* (Fríjol Negro). <sup>(8) (10)</sup>

La grafica anterior demuestra el intercepto en 19.0, este valor representa el punto de equivalencia, el cual es un valor muy cercano al que se obtuvo en el punto final midiéndolo con el electrodo de Calomel. (Ver cálculos para elaborar la grafica en Anexo No. 4).

**c) Titulaciones Base débil ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0.1M) vrs Ácido Fuerte (HCl 0.1M) <sup>(8) (10)</sup>**

En el proceso de Titulación se observó la coloración café verdusco antes de la titulación y tomo un cambio en el viraje de color que va variando conforme a la adición de reactivo titulante hasta completar el volumen de neutralización, en donde se obtiene una coloración rosado lo cual se observa en la Figura No. 32.



**x**

**y**

FIGURA No. 32

**x:** Carbonato de Sodio 0.1M y Extracto Etanólico de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) antes de la Titulación.

**y:** Coloración de Punto Final de A con Ácido Clorhídrico 0.1M

Cuadro No. 10 Valores de pH y su coloración en la Titulación Base Débil-Ácido Fuerte de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro).

VOLUMEN (mL)	pH	COLOR
0.0	10.59	Café verdusco
5.0	9.80	Café tenue
10.0	9.77	Café tenue
15.0	9.60	Rosado viejo
15.5	9.58	Rosado tenue
16.0	9.42	Rosado tenue
16.5	9.36	Rosado tenue
17.0	9.20	Rosado tenue
17.5	8.76	Rosado tenue
18.0	8.61	Rosado tenue
18.5	7.48	Rosado tenue
19.0	6.40	Rosado tenue
19.5	4.31	Rosado
20.0	3.66	Rosado

✘ 19.5 Determinación del punto final.

El viraje de color observado claramente a un volumen de 19.5 mL con un pH=4.31, determina el punto final en la Titulación, con una serie de cálculos se logra graficar  $\Delta^2 \text{ pH} / \Delta^2 V$  vrs Volumen (mL) obteniéndose el Punto de Equivalencia igual a **18.75mL**, que puede variar en un rango de **18.6 mL – 19.7mL**, en donde las moléculas del analito han reaccionado químicamente con las moléculas del titulante, determinándose así la cercanía del Punto Final al Punto de Equivalencia. <sup>(8)</sup>(10)

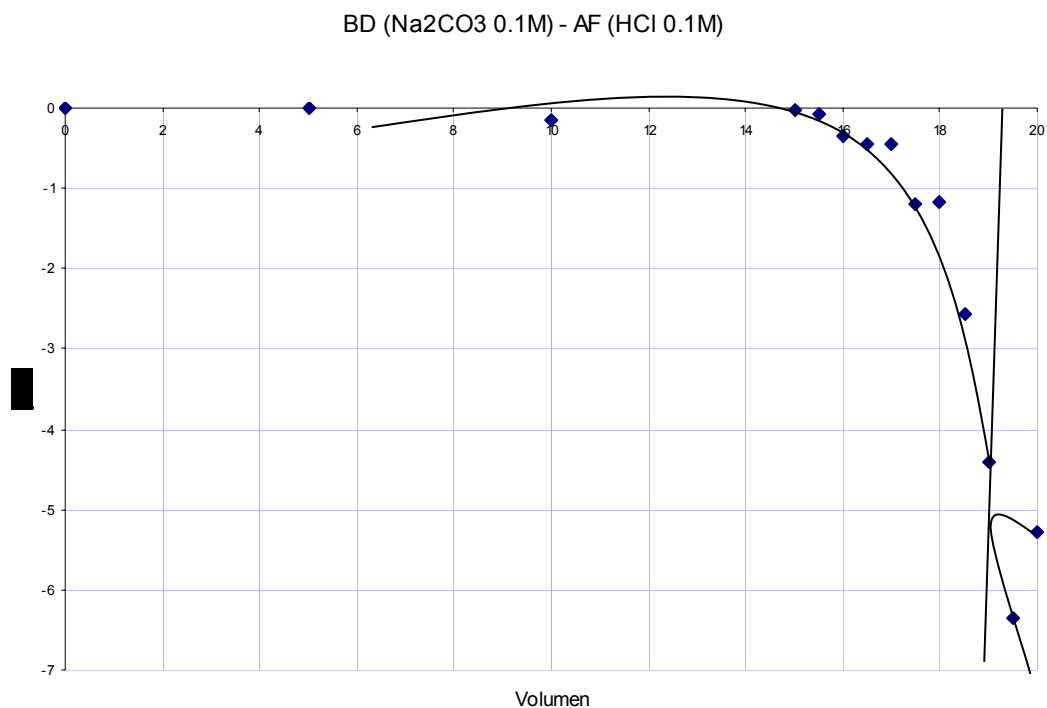


FIGURA No. 33 Grafico de la Titulación potenciométrica de Base Débil-Ácido Fuerte, utilizando como indicador ácido-base el extracto etanólico de *Phaseolus vulgaris* (Fríjol Negro). <sup>(8)</sup> <sub>(10)</sub>

La grafica anterior demuestra el intercepto en 19.5, este valor representa el punto de equivalencia, el cual es un valor muy cercano al que se obtuvo en el punto final midiéndolo con el electrodo de Calomel. (Ver cálculos para elaborar la grafica en Anexo No. 5).



Los extractos que poseen mayor estabilidad fueron R.E., R.E.A., M. IPA, M.E. y M.E.A obtenidos a partir de la cáscara ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro) en estado seco. En cambio con la cáscara fresca fueron menos estables, debido al contenido elevado de agua que posee en su composición, la cual favorece el crecimiento de microorganismos y la alteración de las propiedades físicas del extracto.

Cerrar muy bien el envase para evitar la evaporación del solvente.

Guardar los extractos a temperatura ambiente y protegidos de la luz solar directa.

Los extractos etanolicos conservaron su estabilidad física aparente durante cuatro meses.

Con respecto al Papel Indicador impregnado con el extracto de ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro) el tiempo de duración fue de dos semanas, ya que, conforme paso el tiempo las tiras de papel disminuyeron su intensidad de color y al adicionarles el álcali o el ácido cambiaba de color pero muy tenue. <sup>(29)</sup>

**CAPITULO VI**  
**CONCLUSIONES**

## 6.0 CONCLUSIONES

1. Los extractos que presentaron mejor coloración fueron el extracto etanólico al 96% y el levemente acidificado con Ácido Tartárico pH 5, obtenidos tanto por Percolación por el Método Soxhlet y Maceración.
2. Mediante las pruebas fitoquímicas realizadas a los extractos seleccionados Maceración con etanol al 96% (M.E.), Maceración con etanol al 96% levemente acidificado con Acido Tartárico (M.E.A), extracto etanólico al 96% por el Método Soxhlet (R.E.) y extracto etanólico al 96% levemente acidificado por el Método Soxhlet (R.E.A.) se verifica la presencia de Taninos y Flavonoides; observándose las coloraciones que indican la prueba positiva con diferentes intensidades según el extracto.
3. De los extractos obtenidos Maceración con etanol al 96% (M.E.), Maceración con etanol al 96% levemente acidificado con Ácido Tartárico, extracto etanólico al 96% por el Método Soxhlet y extracto etanólico al 96% levemente acidificado por el Método Soxhlet) el que presento mejores características de coloración y la prueba presuntiva para la escala de pH fue extracto etanólico al 96% por el Método Soxhlet con un pH de seis.



4. Con la elaboración de la escala de pH se pudo comprobar el uso de estos extractos para la determinación del punto final de las valoraciones Ácido-Base, ya que, presentan una gama definida de coloraciones frente al pH de la solución que se encuentra.
5. Debido al resultado favorable del papel indicador frente a un ácido y una base, demuestra que el extracto se puede utilizar para determinar la acidez y basicidad de una sustancia.
6. Todos los extractos obtenidos tanto por Soxhlet como por Maceración en grano fresco y seco, pueden emplearse como indicadores naturales, pero se prefiere el extracto etanólico al 96% por el Método Soxhlet porque presenta muy buena estabilidad.
7. Los extractos obtenidos de la cáscara seca de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro), presentaron mayor estabilidad física aparente con respecto a los extractos obtenidos de la cáscara fresca, ya que, los frijoles frescos poseen en su composición un porcentaje elevado de agua, el cual favorece la descomposición del extracto.
8. Con respecto a los extractos obtenidos de la cáscara seca de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro), los que presentaron mayor estabilidad fueron el

extracto etanólico al 96% con el Método Soxhlet y extracto etanólico al 96% levemente acidificado con el Método Soxhlet, ya que, el Etanol impide la proliferación de microorganismos en el medio y si esta acidificado ocurre lo mismo.

9. Los resultados obtenidos de las curvas de titulación ácido fuerte-base fuerte, ácido débil-base fuerte y base débil-ácido fuerte, indican que el punto de equivalencia y el punto final son similares al emplear el extracto etanolico (R.E.) de *Phaeolus vulgaris* (Fríjol Negro) por lo que se puede emplear como indicador.
10. Según los resultados favorables de esta investigación se concluye que el extracto etanólico obtenido por extracción aplicando el Método Soxhlet (R.E.) en la cáscara seca de *Phaeolus vulgaris* (Fríjol Negro) puede utilizarse como indicador Ácido-Base tanto en solución como en papel.
11. Realizar estudios de estabilidad física aparente a los extractos de *Phaeolus vulgaris* (Fríjol Negro), es muy importante para obtener resultados confiables al emplear el indicador.
12. Los estudios de estabilidad física aparente bajo las condiciones de temperatura ambiente, humedad relativa (65%) y luz normal, han sido satisfactorias, por lo cual el extracto etanólico al 96% por el Método Soxhlet (R.E.) posee un periodo de duración de cuatro meses.

**CAPITULO VII**  
**RECOMENDACIONES**

## 7.0 RECOMENDACIONES

1. Aplicar los métodos adecuados de purificación y normalización del extracto etanólico al 96% por el Método Soxhlet de la cáscara de ***Phaseolus vulgaris*** (Fríjol Negro), para garantizar su pureza.
2. Investigar las Antocianinas responsables de las variaciones de color del extracto etanólico al 96% por el Método Soxhlet, obtenido de la cáscara seca de ***Phaseolus vulgaris*** (Fríjol Negro).
3. Realizar los métodos adecuados para preservar física y microbiológicamente los extractos de ***Phaseolus vulgaris*** (Fríjol Negro).
4. Utilizar Formol al 2% con fin de mejorar la estabilidad del extracto de ***Phaseolus vulgaris*** (Fríjol Negro).
5. Realizar las titulaciones ácido fuerte-base fuerte, ácido débil-base fuerte y base débil-ácido fuerte rápidamente, ya que, las coloraciones duran pocos minutos y de esta manera se podrán apreciar mejor el punto final.
6. Emplear el indicador etanólico al 96% por el Método Soxhlet de ***Phaseolus vulgaris*** (Fríjol Negro) en las prácticas de laboratorio que

requieran ensayos o determinaciones que involucren titulaciones ácido fuerte-base fuerte, ácido débil-base fuerte y base débil-ácido fuerte.

7. Realizar un estudio comparativo de las intensidades de los extractos obtenidos de la cáscara de ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro) dependiendo de la zona de recolección tanto en grano seco como en fresco para cada zona del El Salvador (Occidente, Central y Oriente).
8. Realizar estudios de estabilidad física aparente acelerada y a largo plazo, para obtener un extracto etanólico de ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro) de calidad aceptable.
9. Además de observar los parámetros físicos del extracto etanólico al 96% por el Método Soxhlet (R.E.), se recomienda medir el pH con un electrodo. También realizar las titulaciones titulación ácido fuerte-base fuerte, ácido débil-base fuerte y base débil-ácido fuerte potenciométricamente para corroborar si el extracto etanólico de ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro) aun posee la acción indicadora.
10. Se recomienda almacenar el extracto etanólico al 96% (R.E.) de ***Phaseolus vulgaris*** (Frijol Negro) en envases de vidrio Tipo I (Borosilicato), ya que, otro tipo de envase podría haber migración del solvente hacia el exterior.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1) Dewick, P. 2002. Medicinal Naural Products. Segunda edición. Reino Unido. John Wiley & Sons LTD. p. 149-157.
- 2) Domínguez, X. 1973. Métodos de Investigación Fitoquímica. Primera edición. México. Editorial Limussa. p. 81-88.
- 3) Fritz, J. y otros 1989. Química Analítica. Tercera edición. México. Noriega Editores LIMUSA. p. 210-233
- 4) Gudiel, V. 1987. Manual Agrícola Superb. Sexta edición. Guatemala. p. 245-247.
- 5) Keenan, C. y otros. 1987. Química General. Tercera edición. México. Compañía Editorial Continental S.A. de C.V. p. 350-352, 363-366.
- 6) MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería. ES)/CENTA. 1996. Guía técnica. Cultivo de ejote. p. 8-11.
- 7) MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería. ES)/CENTA. 1996. Guía técnica. Programa de granos básicos. Cultivo de Fríjol. p. 1-10.
- 8) Morales, R. y otros. 2005. Obtención de indicadores naturales Acido-Base a partir de Pétalos de cuatro especies de Flores. UES. p. 49-59.10)
- Rangel, L. 1976. Química Analítica. Primera Edición. México. Editorial Limusa. Vol. p. 428.
- 9) Terranova editores. 1996. Enciclopedia Agropecuaria. Producción Agrícola 1. Colombia. Terranova editores Ltda. v.1. 284p.

- 10) Seese, W. y otros. 1989. Química. Quinta edición. México. Prentice-Hall Hispanoamericano, S.A. p. 400-415.
- 11) Skoog, D. y otros. 2001. Química Analítica. Tercera edición. México. Mc Graw Hill. p. 289-296.
- 12) UES (Universidad de El Salvador) Facultad de Química y Farmacia. 2000. Manual de Farmacognosia
- 13) UES (Universidad de El Salvador) Facultad de Química y Farmacia. 2000. Manual de Química Analítica I.
- 14) Villee, C. 1996. Biología. Octava edición. México D. F. McGraw-Hill Interamericana Editores, S. A. de C. V. p. 98
- 15) Whitten, K. y otros. 1998. Química General. Quinta edición. España. Mc Graw Hill Interamericana. p. 688- 691,783.
- 16) [http://www.aguamarket.com/diccionario/terminos.asp?Id=1255\](http://www.aguamarket.com/diccionario/terminos.asp?Id=1255)
- 17) [http://www.alcion.es/Down.es/Download/Articulos PDF/al/gratis/11art.7\)](http://www.alcion.es/Down.es/Download/Articulos PDF/al/gratis/11art.7)
- 18) [http://www.botanical-online.com/medicinalesantocianinashtm.](http://www.botanical-online.com/medicinalesantocianinashtm)
- 19) <http://www.botanical-online.com/medicalestaninos.htm>
- 20) <http://www.botanical-online.com/plantasvenenosas.htm>
- 21) <http://www.elergonomista.com/fitoterapia/antocianinas.htm>
- 22) <http://en.wikipedia.org/wiki/Soxhlet-extractor>
- 23) <http://www.everonet.com/noticias/publica/quimanal/pdf/5reaccionesdenutralizacin.pdf>

- 24) <http://www.fi.uba.ar/materias/6305/download/Metodos%20Potenciometricos.pdf#search=electrodo.ing.%20Carlos%20Brunatti>.
- 25) <http://www.ipes.org/aguila/producciones.htm>
- 26) <http://www.monografias.com/trabajos15/preservmadera/preserv/madera.shtml>.
- 27) <http://www.semarnat.gob.mx/pfnm/taninos.html>
- 28) <http://www.perso.wanadoo.es/cpalacio/acidobase2.htm>
- 29) <http://www.quimicanova.sbq.org.br/qnol/2002/vol25n4/25.pdf>



## GLOSARIO

**Ácido:** Sustancia que libera iones ( $H^+$ ) cuando se disuelve en agua. <sup>(15)</sup>

**Analito:** Muestra que se analizará. <sup>(10)</sup>

**Amárelo:** Amarillo. <sup>(29)</sup>

**Autoprotólisis:** El agua experimenta autoionización, llamada autoprotólisis, en cuyo proceso actúa a la vez como ácido y como base <sup>(16)</sup>

**Base:** Sustancia que libera iones hidróxilo ( $OH^-$ ) cuando se disuelve en agua. <sup>(15)</sup>

**Aurona:** Se forman probablemente, a partir de las chalconas por ciclación <sup>(1)</sup>

**Catequina:** o flavan-3-oles son las unidades monoméricas de los flavonoides condensados, es decir, taninos. <sup>(1)</sup>

**Cátion Flavílico:** Cation flavilio. <sup>(29)</sup>

**Chalcona** <sup>(1)</sup>: Son aquellas que contienen el anillo A hidroxilado en Carbono dos (C-2) y Carbono cuatro (C-4) son responsables de la coloración amarilla de las flores. <sup>(1)</sup>

**Constante de equilibrio:** Se define la constante de equilibrio  $K_{eq}$  como el producto de las concentraciones en el equilibrio de los productos elevadas a sus respectivos coeficientes estequiométricos, dividido por el producto de las concentraciones de los reactivos en el equilibrio elevadas a sus respectivos coeficientes estequiométricos, para cada temperatura. <sup>(12)</sup>

**Cotiledón:** Parte de la semilla que en muchas especies vegetales rodea al embrión. <sup>(20)</sup>

**Cualitativo:** Observaciones generales acerca de un sistema. El análisis químico de un material para determinar los componentes que contiene. <sup>(10)</sup>

**Cuantitativo:** Valores numéricos obtenidos a través de diversas mediciones de un sistema. El análisis químico de un material para determinar cuanto contiene de cada componente. <sup>(10)</sup>

**Curvas de valoración:** Una representación del pH frente a la cantidad de ácido o base añadidos. <sup>(15)</sup>

**Electrolito:** Sustancia que, cuando se disuelve en agua forma una disolución que conduce una corriente eléctrica. <sup>(12)</sup>

**Electrolito Débil:** Sustancia que al disolverse se disocia en iones, pero en forma parcial. Esta sustancia es poca conductora de la corriente eléctrica. <sup>(12)</sup>

**Electrolito Fuerte:** Sustancia que al disociarse en agua se disocia en iones completamente, produciendo una solución fuertemente conductora de la corriente eléctrica. <sup>(12)</sup>

**Estandarización:** Es el proceso en el que la concentración de una disolución se determina exactamente al valorarla frente a una cantidad exactamente conocida de un patrón primario. <sup>(10)</sup>

**Extracción:** Método empleado en el laboratorio para separar una sustancia de una mezcla o disolución, mediante la utilización de un disolvente en el que la sustancia que queremos separar es muy soluble, siendo el resto de los materiales de la mezcla o disolución insolubles en él. <sup>(20)</sup>

**Flobáfenos:** Polímeros de alto peso molecular originados por el tratamiento con calor y ácidos minerales. <sup>(1)</sup>

**Hidrólisis:** Reacción de una sustancia con el agua, que por lo general cambia el pH de la disolución. <sup>(5)</sup>

**Ionización del Agua:** Como en el agua pura la concentración de hidrogeniones y de hidroxilos es la misma, significa que la concentración de hidrogeniones es de  $1 \times 10^{-7}$ , lo que significa que el pH del agua es 7, es decir, neutro. La constante del agua,  $K_w = 1 \times 10^{-14}$ , es un caso particular de la constante de equilibrio,  $K_w$ . <sup>(5)</sup>

**Maceración:** consiste en dejar reposar las plantas en agua u otro solvente durante algunas horas. Sirve para extraer principios activos inestables frente al calor pero solubles en agua u otro solvente. <sup>(20)</sup>

**Neutralización:** Reacción de un ácido con una base para formar una sal y agua. <sup>(12)</sup>

**pK<sub>a</sub>:** Dado que el valor de la constante de acidez constituye una medida directa de la fuerza de un ácido, su pK<sub>a</sub> es entonces una medida inversa de dicha fuerza; cuanto mayor es la fuerza de un ácido menor es su pK<sub>a</sub>. Los ácidos fuertes, como el clorhídrico (HCl) o el sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), tienen pK<sub>a</sub> negativos y los débiles, como el acético (CH<sub>3</sub>COOH) o el carbónico (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), pK<sub>a</sub> positivos.

**pK<sub>b</sub>:** cuyo significado es análogo. <sup>(15)</sup>

**pH:** el logaritmo negativo de la concentración de iones OH<sup>+</sup> en una solución.

$\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$ . <sup>(13)</sup>

**pOH:** logaritmo negativo de la concentración de iones  $H^+$  en una solución.

$$pOH = -\log [OH^+]. \quad (13)$$

**Punto de equivalencia:** El punto en una valoración en el que se han añadido cantidades químicamente equivalentes de reactantes. <sup>(15)</sup>

**Punto final:** El punto en el cual un indicador cambia de color y una valoración termina. <sup>(15)</sup>

**Sifón:** Co-orientado hacia arriba, intercalado en una conducción hidráulica a presión. <sup>(16)</sup>

**Soxhlet:** Es un método de extracción en la cual la droga de extracción se coloca en un cartucho de extracción (de papel, tela, etc.) en el interior de un extractor (percolador) de vidrio. El recipiente de vidrio que contiene el cartucho está intercalado entre un matraz de destilación y un refrigerante de reflujo conectado al matraz a través de un sifón. El matraz contiene el disolvente que se evapora y pasa a través del sifón hasta el refrigerante, donde se condensa y gotea sobre el material disolviendo y arrastrando las sustancias de que se trate.

**Titulación:** Adición gradual de una disolución de concentración exactamente conocida a otra disolución de concentración desconocida hasta que se complete la reacción química entre ambas disoluciones. <sup>(5)</sup>

**Valoración:** Es el proceso en el que una disolución de un reactante, el valorante, se añade cuidadosamente a una disolución de otro reactante, y se mide el volumen de valorante necesario para la reacción completa. <sup>(15)</sup>

**Vermelho:** Rojo. <sup>(29)</sup>

## **ANEXOS**

## ANEXO 1

### MATERIALES

Agitadores de vidrio

Aro metálico

Balones volumétricos de 100, 250, 500, 1000 mL

Buretas de 25.0 mL

Embudos

Erlenmeyer de 10, 100, 150, 250, 400 mL

Espátula

Frascos plásticos boca ancha

Frascos goteros color ámbar

Gradillas

Malla de asbesto

Mangueras

Matraces fondo plano

Matraces fondo redondo

Microespátula

Papel filtro Watman No. 3

Papel Glasin

Pinzas de bureta

Pinzas de extensión

Pinzas de soporte

Pipetas volumétricas

Probetas de 10, 25, 100 mL

Refrigerantes

Soporte metálico

Tubos de ensayo

Tubos de hemólisis

Vasos de precipitado de 10, 100, 150, 250, 400 mL

Vasos de precipitado plásticos de 250 mL

Vidrio de reloj

## **EQUIPO**

Agitador magnético

Balanza analítica

Balanzas granataría y semi-analítica

Cámara extractora de gases

Equipo de reflujo Soxhlet

Hot-Plate

Mechero Bunsen

pH-metro

**REACTIVOS**

Acetona v/v A.R.

Ácido Acético Glacial 99.9% p/p A.R.

Ácido Bórico A.R.

Ácido Clorhídrico 37% p/p A.R.

Ácido Fosfórico A.R.

Ácido Sulfúrico 98% p/p A.R.

Ácido Tartárico (sólido) A.R.

Agua destilada

Agua de Bromo 2% p/v

Amoníaco 25% p/p A.R.

Alcohol Isopropílico A.R.

Carbonato de Sodio A.R.

Cloruro Férrico 5% p/v

Dicromato de Potasio 5% p/v

Etanol 96% v/v

Fenolftaleína 0.1%

Hidróxido de Sodio (sólido) p/v A.R.

Solución de Gelatina al 2% p/v

Subacetato de Plomo al 5% p/v

Ácido Clorhídrico 0.1M (Titrisol)

Hidróxido de Sodio 0.1M (Titrisol)



**REACTIVOS ESTANDARIZADOS**

Ácido Acético 0.1M

Ácido Clorhídrico 0.1M

Carbonato de Sodio 0.1M

Hidróxido de Sodio 0.1M

## ANEXO No. 2

### PREPARACIÓN DE REACTIVOS

#### ETANOL LEVEMENTE ACIDIFICADO. <sup>(8)</sup>

Preparación de solución de Ácido Tartárico 0.1 M

PM <sub>Ácido Tartárico</sub> = 150 g/mol

15.0 g Ácido Tartárico      \_\_\_\_\_      100 mL de agua

Solución de Ácido Tartárico pH < 1

Etanol 96% pH = 6

0.2 mL <sub>Ácido Tartárico 0.1 M</sub>      —      10.0mL de Etanol para obtener un pH 5

x      —      500.0 mL de Etanol

x = 20.0 mL de solución de ácido tartárico para 500.0 mL de Solución de Etanol levemente Acidificado (pH 5).

#### PROCEDIMIENTO GENERAL: <sup>(8)</sup>

1. Pesar en Balanza semianalítica 15.0 g de Ácido Tartárico y disolverlo en aproximadamente 25 mL de agua destilada, contenidos en un vaso precipitado de 50 mL, agitar hasta completa disolución haciendo uso de agitador de vidrio.
2. Transferir la solución a un frasco volumétrico de 100.0 mL y llevar a volumen con agua destilada.
3. Homogenizar, envasar y rotular.

### **SOLUCIÓN DE ETANOL ACIDIFICADO CON UNA SOLUCIÓN DE ÁCIDO TARTÁRICO pH 5.** <sup>(8)</sup>

1. Transferir 20.0 mL de la solución de Ácido Tartárico 0.1M, mediante una pipeta volumétrica de 20.0 mL a un frasco volumétrico de 1000.0 mL, llevar a volumen con Etanol al 96%.

### **SOLUCIÓN REGULADORA.**

Solución ácida: mezcla de Ácido Fosfórico 0.04 M, Ácido Acético 0.04 M y Ácido Bórico 0.04 M.

1. En una balanza analítica, pesar 2.4 g de Ácido Bórico y disolverlo en aproximadamente 25 mL de agua libre de CO<sub>2</sub> contenidos en un vaso precipitado de 50 mL, agitar hasta disolución.
2. En un frasco volumétrico de 1000.0 mL que contenga cerca de 500mL de agua destilada libre de CO<sub>2</sub> mezclar: 2.7 mL de Ácido Fosfórico (d=1.70; P=85.5%), 2.3 mL Ácido Acético Glacial (d=1.05; P=99.8%) y la solución de Ácido Bórico recientemente preparada, hasta completa homogenización.
3. Llevar a volumen con agua destilada libre de CO<sub>2</sub>.
4. Homogenizar, envasar y rotular.

### **SOLUCIÓN REGULADORA A DIFERENTES pH.**

1. Rotular trece envases plásticos con el pH que contendrá.

2. Adicionar a un set de trece vasos precipitados Solución Ácida 0.04M e Hidróxido de Sodio 0.2M según la
3. Medir el pH de la solución reguladora por medio de un pH-metro, previamente calibrado.
4. Guardar en los envases plásticos.

Cuadro No. 13 Preparacion de Solución Buffer a pH 1-13

Volumen (mL) de Solución Acida 0.04M	Volumen (mL) de Hidróxido de Sodio 0.2M	pH
100	---	1(*)
95	<b>5</b>	2
80	<b>20</b>	3
75	<b>25</b>	4
65	<b>35</b>	5
58	<b>42</b>	6
45	<b>52</b>	7
40	<b>60</b>	8
30	<b>70</b>	9
23	<b>77</b>	10
15	<b>85</b>	11
---	<b>100</b>	12
---	---	13 (**)

(\*) El pH de 1 se obtiene por la adición de Ácido Clorhídrico 1M.

(\*\*) El pH de 13 se obtiene por la adición de Hidróxido de Sodio 0.2M

## PREPARACION DE REACTIVOS

### ÁCIDO ACÉTICO 0.1M VS <sup>(4)</sup>

PM <sub>Ácido Acético</sub> = 60.052 g/mol

% Pureza <sub>Ácido Acético</sub> = 99.9% P/P

$$\rho \text{ Ácido Acético} = 1.05 \text{ g/mL}$$

$$99.9 \text{ g Ácido Acético} \text{ ————— } 100 \text{ g de solución}$$

$$60.05 \text{ g Ácido Acético} \text{ ----- } x$$

$$x = 60.11 \text{ g Ácido Acético en solución}$$

$$\rho = m/V \quad V = m/\rho$$

Donde:  $\rho$  = densidad

$m$  = masa

$V$  = volumen

$$V = 60.11 \text{ g Ácido Acético} / 1.05 \text{ g/mL}$$

$V = 57.24 \text{ mL de Ácido Acético Glacial para } 1000 \text{ mL de solución } 1\text{M}$

$$57.24 \text{ mL Ácido Acético Glacial} \text{ ----- } 1 \text{ M}$$

$$x \text{ ----- } 0.1 \text{ M}$$

$$x = 5.72 \text{ mL}$$

$x \approx 5.70 \text{ mL de Ácido Acético Glacial para preparar } 1000 \text{ mL de solución } 0.1\text{M}.$

#### **PROCEDIMIENTO GENERAL:** <sup>(4)</sup>

Prepara esta solución en cámara de extracción.

1. Adicionar 500 mL de agua destilada a un frasco volumétrico de 1000.0 mL.
2. Adicionar con una pipeta de Mohr 5.7 mL de ácido acético glacial en el frasco volumétrico y agitar la solución.
3. Llevar a volumen con agua destilada.

4. Homogenizar, envasar y rotular.

**PROCEDIMIENTO DE ESTANDARIZACION:** <sup>(4)</sup>

1. Llenar una bureta de 25.0 mL con la solución de Ácido Acético 0.1M, previamente ambientada con esta.
2. Transferir por medio de una pipeta volumétrica 10.0 mL de Hidróxido de Sodio 0.1M (Titrisol) a un erlenmeyer de 125 mL.
3. Adicionar dos gotas de Fenolftaleina 0.1% y agitar.
4. Titular el Hidróxido de Sodio, adicionando el Ácido Acético poco a poco con agitación constante hasta llegar al punto final, el cual se verifica cuando la solución se torna de rosa a incolora.
5. Tomar lectura del volumen gastado de Ácido Acético 0.1M
6. Realizar tres valoraciones.

**CALCULOS** <sup>(4)</sup>

$V_{mx} = 10 \text{ mL}$  de Hidróxido de Sodio 0.1M (Titrisol)

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

Valoración No. 1:

$$V_{\text{gastado de Ácido Acético}} = 10 \text{ mL}$$

$$C_{\text{Ácido Acético}} V_{\text{Ácido Acético}} = C_{\text{Hidróxido de Sodio (Titrisol)}} V_{\text{Hidróxido de Sodio (Titrisol)}}$$

$$C_{\text{Ácido Acético}} (10 \text{ mL}) = (0.1M)(10 \text{ mL})$$

$$C_{\text{Ácido Acético}} = 0.1M$$

Valoración No. 2:

$$V_{\text{gastado de Ácido Acético}} = 10 \text{ mL}$$

$$C_{\text{Ácido Acético}} (10 \text{ mL}) = (0.1\text{M})(10 \text{ mL})$$

$$C_{\text{Ácido Acético}} = 0.1\text{M}$$

Promediar las molaridades reales para introducir a la siguiente fórmula:

$$M_{\text{Real}} = (0.1 + 0.1)\text{M}/2 = 0.1\text{M}$$

$$\text{Factor de Corrección (Fc)} = \frac{\text{Molaridad Real}}{\text{Molaridad Teórica}}$$

$$\text{Factor de Corrección (Fc)} = 0.1/0.1 = 1.0$$

### ÁCIDO CLORHÍDRICO 0.1M VS <sup>(4)</sup>

$$PM_{\text{Ácido Clorhídrico}} = 36.46 \text{ g/mol}$$

$$\rho = 1.19 \text{ g/mL}$$

Pureza: 37%

$$36.46 \text{ g Ácido Clorhídrico} \text{ ----- } 1 \text{ M} \text{ ----- } 1000 \text{ mL}$$

$$3.646 \text{ g Ácido Clorhídrico} \text{ ----- } 0.1 \text{ M} \text{ ----- } 1000 \text{ mL}$$

$$37 \text{ g Ácido Clorhídrico} \text{ ----- } 100 \text{ g de solución concentrada}$$

$$3.646 \text{ g Ácido Clorhídrico} \text{ ----- } x$$

$$x = 9.854 \text{ g Ácido Clorhídrico}$$

$$\rho = m/V \quad V = m/\rho$$

Donde:  $\rho$  = densidad

$m$  = masa

$V$  = volumen

$$V = 9.854 \text{ g Ácido Clorhídrico} / 1.19 \text{ g/mL}$$

$$V = 8.280 \text{ mL}$$

$V \approx 8.3 \text{ mL}$  de Ácido Clorhídrico concentrado para 1000 mL de solución 0.1M.

### **TÉCNICA DE PREPARACIÓN:**<sup>(4)</sup>

Prepara esta solución en cámara de extracción.

1. Preparar un baño de agua fría.
2. Adicionar a un balón volumétrico de 1000.0 mL, 500 mL de agua destilada.
3. Colocar el balón volumétrico en el baño de agua fría.
4. Adicionar cuidadosamente con una pipeta Morh 8.3 mL de Acido Clorhídrico concentrado.
5. Aforar a 1000.0 mL con agua destilada. Realizar este paso a temperatura ambiente.
6. Homogenizar, envasar y etiquetar.

### **PROCEDIMIENTO DE ESTANDARIZACIÓN:** <sup>(4)</sup>

1. Llenar una bureta de 25.0 mL con la solución de Ácido Clorhídrico 0.1M, previamente ambientada con esta.
2. Transferir por medio de una pipeta volumétrica 10.0 mL de Hidróxido de Sodio 0.1M (Titrisol) a un erlenmeyer de 125 mL.
3. Adicionar dos gotas de Fenolftaleina 0.1% y agitar.



4. Titular el Hidróxido de Sodio, adicionando el Ácido Clorhídrico poco a poco con agitación constante hasta llegar al punto final, el cual se verifica cuando la solución pasa de rosa a incoloro.
5. Tomar lectura del volumen gastado de Ácido Clorhídrico 0.1M
6. Realizar tres valoraciones.

### **CALCULOS** <sup>(4)</sup>

$V_{mx} = 10 \text{ mL}$  de Hidróxido de Sodio 0.1M (Titrisol)

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

Valoración No. 1:

$$V_{\text{gastado de Ácido Clorhídrico}} = 9.9 \text{ mL}$$

$$C_{\text{Ácido Clorhídrico}} V_{\text{Ácido Clorhídrico}} = C_{\text{Hidróxido de Sodio (Titrisol)}} V_{\text{Hidróxido de Sodio (Titrisol)}}$$

$$C_{\text{Ácido Clorhídrico}} (9.9 \text{ mL}) = (0.1M)(10 \text{ mL})$$

$$C_{\text{Ácido Clorhídrico}} = 0.101M$$

Valoración No. 2:

$$V_{\text{gastado de Ácido Clorhídrico}} = 9.9 \text{ mL}$$

$$C_{\text{Ácido Clorhídrico}} (9.9 \text{ mL}) = (0.1M)(10 \text{ mL})$$

$$C_{\text{Ácido Clorhídrico}} = 0.101M$$

Promediar las molaridades reales para introducir a la siguiente fórmula:

$$M_{\text{Real}} = (0.101 + 0.10)M/2 = 0.1005M$$

$$\text{Factor de Corrección (Fc)} = \frac{\text{Molaridad Real}}{\text{Molaridad Teórica}}$$

$$\text{Factor de Corrección (Fc)} = 0.1005/0.1 = 1.005$$

**CARBONATO DE SODIO 0.1M** <sup>(4)</sup>

PM Carbonato de Sodio = 106 g/mol

106 g Carbonato de Sodio ----- 1M

x ----- 0.1 M

x = 10.6 g de Carbonato de Sodio para 1000 mL de solución 0.1M

**PROCEDIMIENTO GENERAL:** <sup>(4)</sup>

1. Colocar dentro de una capsula de porcelana 15 g de Carbonato de Sodio y secar dentro de una estufa a 110 C por 1 hora.
2. Pesar en un beaker de 50 mL, 10.6 g de Carbonato de Sodio y disolverlos con 25 mL de agua destilada.
3. Transferir esta solución a un frasco volumétrico de 1000 mL y llevar a volumen con agua destilada.
4. Homogenizar, envasar y rotular.

**NOTA:** La solución de Carbonato de Sodio 0.1M no se estandarizo por ser un Estándar Primario

**HIDROXIDO DE SODIO 0.1M VS** <sup>(4)</sup>

PM = 40 g/mol

40 g Hidróxido de Sodio ----- 1 M ----- 1000 mL

4.0 g Hidróxido de Sodio ----- 0.1 M ----- 1000 mL

**PROCEDIMIENTO GENERAL:** <sup>(4)</sup>

1. Pesar en balanza semianalitica, 4.0 g de Hidróxido de Sodio, el cual deberá estar contenido en un vaso precipitado de 250 mL.
2. Adicionar al vaso precipitado, aproximadamente 100 mL de agua libre de CO<sub>2</sub> y agitar hasta disolver completamente.
3. Transferir la solución contenida en el vaso de precipitado a un frasco volumétrico de 1000 mL y llevar a volumen con agua libre de CO<sub>2</sub>.
4. Homogenizar, envasar y rotular.

**PROCEDIMIENTO DE ESTANDARIZACIÓN:** <sup>(4)</sup>

1. Llenar una bureta de 25.0 mL con la solución de Hidróxido de Sodio 0.1M, previamente ambientada con esta.
2. Transferir por medio de una pipeta volumétrica 10.0 mL de Acido Clorhídrico 0.1M (Titrisol) a un erlenmeyer de 125 mL.
3. Adicionar dos gotas de Fenolftaleina 0.1% y agitar.
4. Titular el Ácido Clorhídrico, adicionando el Hidróxido de Sodio poco a poco con agitación constante hasta llegar al punto final, el cual se verifica cuando la solución se torna de incolora rosa.
5. Tomar lectura del volumen gastado de Hidróxido de Sodio 0.1M
6. Realizar tres valoraciones.

**CALCULOS** <sup>(4)</sup>

$V_{mx} = 10 \text{ mL}$  de Ácido Clorhídrico 0.1M (Titrisol)

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

Valoración No. 1:

$V_{\text{gastado de Hidróxido de Sodio}} = 10 \text{ mL}$

$$C_{\text{Hidróxido de Sodio}} V_{\text{Hidróxido de Sodio}} = C_{\text{Ácido Clorhídrico (Titrisol)}} V_{\text{Ácido Clorhídrico (Titrisol)}}$$

$$C_{\text{Hidróxido de Sodio}} (10 \text{ mL}) = (0.1\text{M})(10 \text{ mL})$$

$$C_{\text{Hidróxido de Sodio}} = 0.1\text{M}$$

Valoración No. 2:

$V_{\text{gastado de Hidróxido de Sodio}} = 10 \text{ mL}$

$$C_{\text{Hidróxido de Sodio}} (10 \text{ mL}) = (0.1\text{M})(10 \text{ mL})$$

$$C_{\text{Hidróxido de Sodio}} = 0.1\text{M}$$

Promediar las molaridades reales para introducir a la siguiente fórmula:

$$M_{\text{Real}} = (0.1 + 0.1)\text{M}/2 = 0.1\text{M}$$

$$\text{Factor de Corrección (Fc)} = \frac{\text{Molaridad Real}}{\text{Molaridad Teórica}}$$

$$\text{Factor de Corrección (Fc)} = 0.1/0.1 = 1.0$$

### ANEXO No. 3

Cálculos para la obtención del punto de equivalencia graficando la segunda derivadas a partir de los datos obtenidos en la titulación Ácido Fuerte-Base Débil del extracto etanólico de *Phaseolus vulgaris* (Fríjol Negro), (Ver Figura No. 29, Pág. 103).

Formulas:

$$\Delta V = mL_2 - mL_1$$

$$\Delta pH = pH_2 - pH_1$$

$$\text{Primera Derivada} = \Delta pH / \Delta V$$

$$\text{Segunda Derivada} = \Delta^2 pH / \Delta^2 V = (\Delta pH / \Delta V)_1 - (\Delta pH / \Delta V)_2$$

Cuadro No. 14 Datos para obtener la grafica de titulación Ácido Fuerte (HCl 0.1M)-Base Fuerte (NaOH 0.1M).

V (mL)	pH	$\Delta V$	$\Delta pH$	$\Delta pH / \Delta V$	$\Delta^2 pH / \Delta^2 V$
0.0	1.98	0.0	-	-	-
5.0	1.21	5.0	0.23	0.046	-
10.0	2.50	5.0	0.29	0.058	0.012
15.0	2.60	5.0	0.1	0.02	-0.038
15.5	2.68	0.5	0.08	0.16	0.14
16.0	2.80	0.5	0.12	0.24	0.08
16.5	2.87	0.5	0.07	0.14	-0.1
17.0	2.95	0.5	0.08	0.16	0.02
17.5	3.20	0.5	0.25	0.5	0.34
18.0	3.36	0.5	0.16	0.32	-0.18
18.5	3.50	0.5	0.14	0.28	-0.04
19.0	4.15	0.5	0.65	1.3	1.02
19.5	6.18	0.5	2.03	4.06	2.76
20.0	9.44	0.5	2.96	5.95	1.89

#### ANEXO No. 4

Cálculos para la obtención del punto de equivalencia graficando la segunda derivadas a partir de los datos obtenidos en la titulación Ácido Débil - Base Fuerte del extracto etanólico de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro), (Ver Figura No. 30, Pág. 105)

Formulas:

$$\Delta V = mL_2 - mL_1$$

$$\Delta pH = pH_2 - pH_1$$

$$\text{Primera Derivada} = \Delta pH / \Delta V$$

$$\text{Segunda Derivada} = \Delta^2 pH / \Delta^2 V = (\Delta pH / \Delta V)_1 - (\Delta pH / \Delta V)_2$$

Cuadro No. 15 Datos para obtener la grafica de titulación Ácido Débil (CH<sub>3</sub>COOH 0.1M)-Base Fuerte (NaOH 0.1M).

V (mL)	pH	$\Delta V$	$\Delta pH$	$\Delta pH / \Delta V$	$\Delta^2 pH / \Delta^2 V$
0.0	3.12	0.0	-	-	-
5.0	4.22	5.0	1.1	0.22	-
10.0	4.77	5.0	0.55	0.11	-0.11
15.0	5.25	5.0	0.48	0.096	-0.014
15.5	5.32	0.5	0.07	0.14	0.044
16.0	5.38	0.5	0.06	0.12	-0.02
16.5	5.45	0.5	0.07	0.14	0.02
17.0	5.55	0.5	0.1	0.2	0.06
17.5	5.65	0.5	0.1	0.2	0.00
18.0	5.79	0.5	0.14	0.28	0.08
18.5	5.99	0.5	0.2	0.4	0.12
19.0	6.34	0.5	0.35	0.7	0.3
19.5	7.93	0.5	1.59	3.18	2.48
20.0	9.52	0.5	1.59	3.18	0.00

### ANEXO No. 5

Cálculos para la obtención del punto de equivalencia graficando la segunda derivadas a partir de los datos obtenidos en la titulación Base Débil – Ácido Fuerte del extracto etanólico de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro), (Ver Figura No. 33, Pág. 108).

Formulas:

$$\Delta V = mL_2 - mL_1$$

$$\Delta pH = pH_2 - pH_1$$

$$\text{Primera Derivada} = \Delta pH / \Delta V$$

$$\text{Segunda Derivada} = \Delta^2 pH / \Delta^2 V = (\Delta pH / \Delta V)_1 - (\Delta pH / \Delta V)_2$$

Cuadro No. 16 Datos para obtener la grafica de titulación Base Débil Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0.1M)-Ácido Fuerte (NaOH 0.1M).

V (mL)	pH	$\Delta V$	$\Delta pH$	$\Delta pH / \Delta V$	$\Delta^2 pH / \Delta^2 V$
0.0	10.59	0.0	-	-	-
5.0	9.80	5.0	-0.79	-0.158	-
10.0	9.77	5.0	-0.03	-0.003	-0.161
15.0	9.60	5.0	-0.17	-0.034	-0.037
15.5	9.58	0.5	-0.02	-0.04	-0.074
16.0	9.42	0.5	-0.16	-0.32	-0.36
16.5	9.36	0.5	-0.06	-0.12	-0.44
17.0	9.20	0.5	-0.16	-0.32	-0.44
17.5	8.76	0.5	-0.44	-0.88	-1.2
18.0	8.61	0.5	-0.15	-0.3	-1.18
18.5	7.48	0.5	-1.13	-2.26	-2.56
19.0	6.40	0.5	-1.08	-2.16	-4.42
19.5	4.31	0.5	-2.09	-4.18	-6.34
20.0	3.66	0.5	-0.65	-1.3	-5.28

## ANEXO No. 6

### **EXTRACTOR SOXHLET** <sup>(22)</sup>

El extractor Soxhlet o simplemente Soxhlet es un tipo de material de vidrio utilizado para la extracción de compuestos en un sólido, a través de un solvente.

Fue inventado en 1879 por Franz von Soxhlet, y fue diseñado originalmente para extraer un lípido de una muestra de un material sólido. Este equipo está diseñado para aplicaciones a nivel micro durante el análisis y experimentación en procesos de extracción de grasas. Integrado por un extractor, un condensador especial de tipo bulbo y un matraz.

El condensador está provisto de una chaqueta de 100 mm de longitud, con espigas para la entrada y salida del agua de enfriamiento. El extractor tiene una capacidad, hasta la parte superior del sifón, de 10 mL; el diámetro interior del extractor es de 20 mm y longitud de 90 mm. El matraz es de 500 mL de capacidad.

Esta conformado por un cilindro de vidrio, vertical de aproximadamente un pie de alto y una pulgada y media de diámetro. La columna está dividida en una cámara superior e inferior. La superior o cámara de muestra sostiene un sólido o polvo del cual se extraerán compuestos. La cámara de solvente, exactamente abajo, contiene una reserva de solvente orgánico, éter o alcohol.



Dos tubos vacíos, o brazos corren a lo largo, a un lado de la columna para conectar las dos cámaras. El brazo de vapor, corre en línea recta desde la parte superior de la cámara del solvente a la parte superior de la cámara del sólido. El otro brazo, para el retorno de solvente, describe dos U sobrepuestas, que llevan desde la cámara de la muestra el solvente hasta la cámara de solvente. El soxhlet funciona cíclicamente, para extraer las concentraciones necesarias de algún determinado compuesto.

Éste funciona de la siguiente forma: Cuando se evapora el solvente sube hasta el área donde es condensado; aquí, al caer y regresar a la cámara de solvente, va separando los compuestos, hasta que se llega a una concentración deseada. Esto puede ocasionar problemas con algunos compuestos, que con los ciclos llevan a un rompimiento, como lo es el ámbar.

La muestra homogenizada en sulfato de sodio, se cubre con lana de vidrio y se deposita en un dedal en un tubo de extracción contenido en un recipiente con solvente. El solvente se evapora, y en el tubo de condensación, comienza a gotear sobre el dedal de extracción. Una vez el líquido alcanza el nivel de sifonado, el solvente es devuelto al frasco y comienza un proceso de reflujó.

Ventajas: Una vez el solvente es devuelto, el analito se mantiene en este, es decir que la muestra es tratada con solvente fresco siempre. No destruye la muestra y es de bajo costo.

Desventajas: El método es antiguo, puede ocasionar contaminación y es muy lento.

## ANEXO No. 7

### MÉTODOS POTENCIOMÉTRICOS <sup>(24)</sup>

Se puede describir la potenciometría simplemente como la medición de un potencial en una celda electroquímica. Es el único método electroquímico en el que se mide directamente un potencial de equilibrio termodinámico y en el cual esencialmente no fluye corriente neta. El instrumental necesario para las medidas potenciométricas comprende un electrodo de referencia, un electrodo indicador y un dispositivo de medida de potencial.

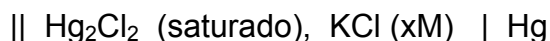
#### Electrodos de Referencia

En muchas aplicaciones es deseable que el potencial de media celda de uno de los electrodos sea conocido, constante y completamente insensible a la composición de la solución en estudio. Un electrodo con estas características, se denomina electrodo de referencia.

Un electrodo de referencia debe ser fácil de montar, proporcionar potenciales reproducibles y tener un potencial sin cambios con el paso de pequeñas corrientes. Dos electrodos comúnmente utilizados que satisfacen estos requisitos son el Electrodo de Calomel y el Electrodo de Plata-Cloruro de Plata.

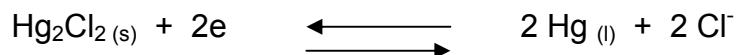
#### ELECTRODO DE CALOMEL <sup>(24)</sup>

Las medias celdas de calomel se representan como sigue:



Donde x representa la concentración molar de cloruro de potasio en la solución.

La reacción del electrodo está dada por la ecuación



El potencial de esta celda varía con la concentración del cloruro x, y esta cantidad debe especificarse al escribir el electrodo.

El electrodo saturado de calomel (SCE) es el más utilizado por la facilidad de su preparación. Sin embargo, comparado con los otros dos, posee un coeficiente de temperatura algo mayor.

Se pueden obtener en el comercio varios tipos de electrodos de calomel que resultan adecuados; (Ver Figura No. 34) se muestra un modelo típico. El cuerpo del electrodo consiste en un tubo de vidrio de 5 a 15 cm de largo y 0,5 a 1 cm de diámetro. Un tubo interior contiene una pasta de mercurio-cloruro de mercurio (I) conectado a la solución saturada de cloruro de potasio del tubo externo, a través de un pequeño orificio.

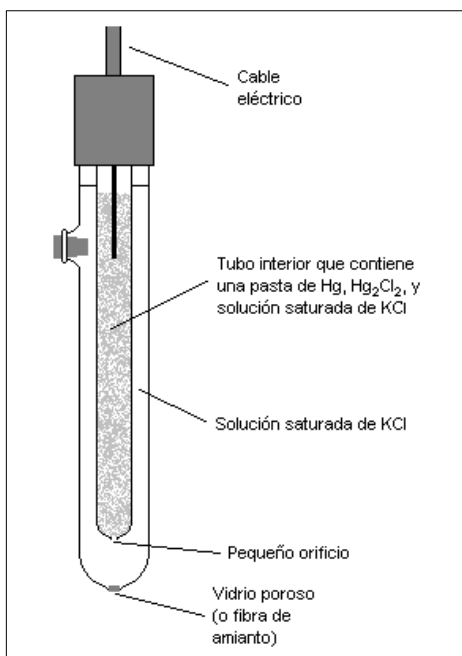


Figura 34 - Electrodo de referencia de calomel típico <sup>(24)</sup>

**ANEXO No. 8**

Figura No. 35 Plantación de frijol <sup>(18)</sup>



Figura No. 36 Vaina que contiene a *Phaseolus vulgaris* <sup>(19)</sup>

**ANEXO No. 9****FOTOGRAFÍAS DEL PROCESO DE ANÁLISIS**

FIGURA No 37. Operación de Pesada de 20 g de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro) para macerar y posteriormente retirar la cáscara.



FIGURA No. 38: Proceso de hinchamiento de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro), por medio de una leve maceración para la posterior remoción de la cáscara con los respectivos solventes.



FIGURA No. 39: Proceso de hinchamiento de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro), por medio de una leve maceración para la posterior remoción de la cáscara con los respectivos solventes para su posterior extracción por el Método Soxhlet.



FIGURA No. 40 Operación de pesada de 20g de cáscara de *Phaseolus vulgaris* (Frijol Negro), para cada extracción.