



Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería Química

**EVALUACIÓN DE UN EXTRACTO VEGETAL PARA UTILIZARSE COMO INDICADOR
ÁCIDO-BASE A PARTIR DEL CONTENIDO DE PIGMENTOS ANTOCIÁNICOS, PRESENTES
EN LA CÁSCARA DE RÁBANO ROJO (*Raphanus sativus var*) A NIVEL LABORATORIO**

Lourdes Carolina Ozaeta Siliezar

Asesorado por la Inga. Adela María Marroquín González

Guatemala, septiembre de 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**EVALUACIÓN DE UN EXTRACTO VEGETAL PARA UTILIZARSE COMO INDICADOR
ÁCIDO-BASE A PARTIR DEL CONTENIDO DE PIGMENTOS ANTOCIÁNICOS, PRESENTES
EN LA CÁSCARA DE RÁBANO ROJO (*Raphanus sativus var*) A NIVEL LABORATORIO**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA
POR

LOURDES CAROLINA OZAETA SILIEZAR
ASESORADO POR LA INGA. ADELA MARÍA MARROQUÍN GONZÁLEZ

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERA QUÍMICA

GUATEMALA, SEPTIEMBRE DE 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANO	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
VOCAL I	Ing. Angel Roberto Sic García
VOCAL II	Ing. Pablo Christian de León Rodríguez
VOCAL III	Inga. Elvia Miriam Ruballos Samayoa
VOCAL IV	Br. Narda Lucía Pacay Barrientos
VOCAL V	Br. Walter Rafael Véliz Muñoz
SECRETARIA	Inga. Lesbia Magalí Herrera López

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO	Ing. Murphy Olympto Paiz Recinos
EXAMINADOR	Ing. Erwin Manuel Ortiz Castillo
EXAMINADOR	Ing. Jaime Domingo Carranza González
EXAMINADOR	Ing. Victor Herbert de León Morales
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

EVALUACIÓN DE UN EXTRACTO VEGETAL PARA UTILIZARSE COMO INDICADOR ÁCIDO-BASE A PARTIR DEL CONTENIDO DE PIGMENTOS ANTOCIÁNICOS, PRESENTES EN LA CÁSCARA DE RÁBANO ROJO (*Raphanus sativus var*) A NIVEL LABORATORIO

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha 6 de mayo de 2015.



Lourdes Carolina Ozaeta Siliezar



Guatemala, 09 de julio de 2015

Sr.
Director de Escuela de Química
Ing. Víctor Manuel Monzón
Facultad de Ingeniería
Su despacho

Por este medio le notifico que apruebo el Informe Final de Trabajo de Graduación con el nombre de "EVALUACIÓN DE UN EXTRACTO VEGETAL PARA UTILIZARSE COMO INDICADOR ÁCIDO-BASE A PARTIR DEL CONTENIDO DE PIGMENTOS ANTOCIANICOS, PRESENTES EN LA CÁSCARA DE RÁBANO ROJO (*Raphanus sativus var*) A NIVEL LABORATORIO" de la estudiante de ingeniería química Lourdes Carolina Ozaeta Siliezar, carné 201020544.

Sin otro particular:

(f) 

Inga. Qca. Adela María Marroquín González
ASESORA
Profesora Interina
Escuela Ingeniería Química, FIUSAC

INGENIERA QUÍMICA
ADELA MARÍA MARROQUÍN GONZÁLEZ
COLEGIADO 1446



Guatemala, 20 de agosto de 2015.
Ref. EIQ.TG-IF.055.2015.

Ingeniero
Víctor Manuel Monzón Valdez
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería

Estimado Ingeniero Monzón:

Como consta en el registro de evaluación del informe final EIQ-PRO-REG-007 correlativo 012-2015 le informo que reunidos los Miembros de la Terna nombrada por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del:

INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADUACIÓN

Solicitado por la estudiante universitaria: **Lourdes Carolina Ozaeta Siliezar**.
Identificada con número de carné: **2010-20544**.
Previo a optar al título de **INGENIERA QUÍMICA**.

Siguiendo los procedimientos de revisión interna de la Escuela de Ingeniería Química, los Miembros de la Terna han procedido a **APROBARLO** con el siguiente título:

EVALUACIÓN DE UN EXTRACTO VEGETAL PARA UTILIZARSE COMO INDICADOR ÁCIDO-BASE A PARTIR DEL CONTENIDO DE PIGMENTOS ANTOCIANICOS, PRESENTES EN LA CÁSCARA DE RÁBANO ROJO (*Raphanus sativus var*) A NIVEL LABORATORIO

El Trabajo de Graduación ha sido asesorado por la Ingeniera Química: **Adela María Marroquín González**.

Habiendo encontrado el referido informe final del trabajo de graduación **SATISFACTORIO**, se autoriza al estudiante, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a las normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Inga. Cinthya Patricia Ortiz Quiróa
COORDINADORA DE TERNA
Tribunal de Revisión
Trabajo de Graduación



C.c.: archivo





Ref.EIQ.TG.138.2015

El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del Asesor y de los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química para revisar el Informe del Trabajo de Graduación de la estudiante, **LOURDES CAROLINA OZAETA SILIEZAR** titulado: **"EVALUACIÓN DE UN EXTRACTO VEGETAL PARA UTILIZARSE COMO INDICADOR ÁCIDO-BASE A PARTIR DEL CONTENIDO DE PIGMENTOS ANTOCIÁNICOS, PRESENTES EN LA CÁSCARA DE RÁBANO ROJO (RAPHANUS SATIVUS VAR) A NIVEL LABORATORIO"**. Procede a la autorización del mismo, ya que reúne el rigor, la secuencia, la pertinencia y la coherencia metodológica requerida.

"Id y Enseñad a Todos"

Ing. Víctor Manuel Monzón Valdez
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química



Guatemala, septiembre 2015

Cc: Archivo
VMMV/ale



ACAII

Agencia Certificadora de Acreditación de
Programas de Arquitectura y de Ingeniería





El Decano de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al trabajo de graduación titulado: **EVALUACIÓN DE UN EXTRACTO VEGETAL PARA UTILIZARSE COMO INDICADOR ÁCIDO-BASE A PARTIR DEL CONTENIDO DE PIGMENTOS ANTOCIÁNICOS, PRESENTES EN LA CÁSCARA DE RÁBANO ROJO (*Raphanus sativus* var) A NIVEL LABORATORIO**, presentado por la estudiante universitaria: **Lourdes Carolina Ozaeta Siliezar**, y después de haber culminado las revisiones previas bajo la responsabilidad de las instancias correspondientes, se autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE

Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
DECANO



Guatemala, septiembre de 2015

/cc

ACTO QUE DEDICO A:

- Dios** Mi Padre celestial, por ser el forjador de mi camino y por darme fortaleza para continuar cuando a punto de caer he estado.
- Virgen María** Por ser modelo de perseverancia y constancia.
- Mis padres** Mario Humberto Ozaeta y Marta Alicia Siliezar, por ser los pilares de mi vida, por su amor, trabajo y sacrificios en todos estos años. Gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí. Este triunfo es para ambos.
- Mis hermanas** Mildred Karina y Mónica Ninet Ozaeta Siliezar, por ser parte importante en todos los proyectos que he realizado en mi vida.
- Mi sobrina** Fátima Ninet Ozaeta, por recordarme a sus pocos días de nacida el significado de la valentía y ser una nueva fuente de alegría en mi vida. Para ti con todo mi amor.
- Amigas y amigos** Por su ayuda incondicional en cada momento, en especial a Marilyn Aja, Vania López, Yesenia Imuchac y Fernando Rosales, por ayudarme a crecer como persona.

AGRADECIMIENTOS A:

Universidad San Carlos de Guatemala	Por darme la oportunidad de estudiar en tan prestigiosa casa de estudios superiores.
Facultad de Ingeniería	Por ser formadora de nuevos líderes guatemaltecos.
Mis padres	Por su ayuda y amor indiscutible en todo momento.
Mis hermanas y sobrina	Por ser ejemplos en mi vida y por su cariño.
Mis amigos de la Facultad	Marilyn Aja, Vania López, Fernando Rosales, Alejandra Valenzuela, Mishel Morales, Jim Girón, Yesenia Imuchac, Walther de León, Hernán Velásquez, Esther López, Aissa López, Blanca Divas, Enid Sotoj, Sucely Zapeta y Cristian Mendez, por su amistad indudable.
Inga. Adela María Marroquín Velázquez	Por su paciencia, dedicación y sabios conocimientos fundamentales en la elaboración de este trabajo de graduación. Mi respeto y agradecimiento con cariño.
Ing. Cesar García	Por supervisar y dar forma a mi trabajo de graduación con sus oportunas correcciones.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	V
LISTA DE SÍMBOLOS	IX
GLOSARIO	XI
RESUMEN.....	XVII
OBJETIVOS.....	XIX
Hipótesis.....	XX
INTRODUCCIÓN	XXV
1. ANTECEDENTES	1
2. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. Materia prima.....	5
2.1.1. Generalidades del fruto de rábano rojo (<i>Raphanus sativus</i> var).....	5
2.1.2. Colorantes naturales de origen vegetal	7
2.1.2.1. Los extractos naturales en la determinación del pH.....	7
2.2. Antocianinas	8
2.2.1. Generalidades	8
2.2.2. Estructura	9
2.2.3. Factores que afectan la estabilidad de las antocianinas.....	11
2.2.3.1. Efecto del pH en las antocianinas.....	11
2.2.4. Análisis de antocianinas por espectrofotometría UV-visible.....	13

2.2.4.1.	Cuantificación.....	15
2.2.5.	Variaciones por efectos mesoméricos (resonancia y tautomería) del color de las antocianinas en solución en función del pH del medio.....	15
2.2.6.	Cromatografía en capa fina.....	18
2.3.	Transferencia de masa como operación unitaria	19
2.3.1.	Extracción sólido-líquido.....	20
2.3.2.	Métodos de extracción de antocianinas	23
2.3.2.1.	Maceración dinámica	24
2.4.	Indicadores ácido-base	24
2.4.1.	Características que debe reunir un indicador	25
2.4.2.	Potencial de hidrógeno (pH).....	26
2.4.3.	Constante del indicador.....	27
2.5.	Valoración ácido-base.....	28
2.5.1.	El material básico empleado	29
2.5.2.	Tipos de titulaciones.....	30
2.5.2.1.	Ácido fuerte-base fuerte	30
2.5.2.2.	Ácido débil-base fuerte.....	32
2.5.2.3.	Ácido fuerte-base débil.....	33
2.5.2.4.	Ácido débil-base débil	34
3.	DISEÑO METODOLÓGICO.....	35
3.1.	Variables	35
3.1.1.	Variables de control.....	35
3.1.2.	Variables dependientes	36
3.1.3.	Variables independientes	36
3.1.4.	Variables de medición	37
3.2.	Delimitación de campo de estudio	38

3.3.	Recursos humanos disponibles.....	39
3.4.	Recursos materiales disponibles	39
3.4.1.	Materia orgánica	39
3.4.2.	Materia inorgánica	40
3.4.3.	Cristalería y equipo.....	40
3.4.3.1.	Equipo	40
3.4.3.2.	Cristalería	41
3.5.	Técnica cualitativa y cuantitativa	42
3.5.1.	Diseño final	42
3.6.	Recolección y ordenamiento de la información	45
3.6.1.	Determinación de corridas a realizar	45
3.6.2.	Diseño de tratamientos.....	46
3.7.	Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información.....	48
3.7.1.	Determinación del porcentaje de rendimiento del extracto en pasta deshidratada utilizada como indicador ácido-base natural, de la cáscara de rábano rojo.....	48
3.7.2.	Determinación el total de antocianinas presentes en las diferentes muestras.....	49
3.7.3.	Medición del potencial de hidrógeno para cualquier muestra	50
3.7.4.	Análisis de la cromatografía de capa delgada (TLC)	51
3.7.5.	Medición de la constante de equilibrio experimental	52
3.8.	Análisis estadístico	56
3.8.1.	Plan de análisis de los resultados.....	59

3.8.2.	Métodos y modelos de los datos según tipo de variables.....	59
3.8.3.	Programas a utilizar para análisis de datos.....	60
4.	RESULTADOS.....	61
5.	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	67
	CONCLUSIONES.....	71
	RECOMENDACIONES	73
	BIBLIOGRAFÍA.....	75
	APÉNDICES.....	77
	ANEXOS.....	135

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1.	Fruto de rábano rojo.....	6
2.	Estructura y sustituyentes de las antocianinas.....	9
3.	Estructura de los monosacáridos más comunes encontrados en las estructuras de las antocianinas.....	10
4.	Cambios en la estructura de las antocianinas a diferentes valores de pH.....	12
5.	Cambios en la estructura de las antocianinas en medio acuoso en función del pH.....	12
6.	Espectros UV-Visible de las antocianinas aciladas y 3,5-glucosiladas (línea continua); no aciladas y 3-glucosiladas (línea discontinua).....	14
7.	Los grupos cromóforos y auxocromos más comunes.....	16
8.	Identificación de cromógeno y cromóforo de las antocianinas y sus variaciones por efectos mesoméricos.....	17
9.	Corrimiento de barras de absorción en grupos cromóforos.....	18
10.	Diagrama ternario extracción sólido-líquido.....	21
11.	Diagrama de equilibrio (triángulo rectángulo).....	23
12.	Escala de pH a 25 °C.....	27
13.	Curva de valoración ácido monoprótico fuerte-base fuerte.....	31
14.	Curva de valoración ácido fosfórico.....	32
15.	Curva de valoración ácido débil-base fuerte.....	33
16.	Curva de valoración ácido fuerte-base débil.....	34
17.	Curva de valoración ácido acético con NH ₃	34

18.	Diseño final	43
19.	Porcentaje promedio del rendimiento de los metabolitos secundarios utilizados como indicador ácido-base natural en base de las variables de operación	62
20.	Promedio de espectros de absorbancia del pigmento antociánico de la cáscara del rábano rojo (<i>Raphanus sativus</i> var) en función de la longitud de onda en la región de 200-700 nm.....	63
21.	Promedio del porcentaje de transmitancia del pigmento antociánico de la cáscara del rábano rojo (<i>Raphanus sativus</i> var) en función de la longitud de onda en la región de 200-700 nm.....	63

TABLAS

I.	Algunos indicadores ácido-base	7
II.	Antocianidinas conocidas según la variaciones estructurales del anillo b de la figura 2.....	10
III.	Determinación de variables de control a escala laboratorio.....	35
IV.	Determinación de las variables dependientes a escala laboratorio	36
V.	Determinación de variables independientes a escala laboratorio	37
VI.	Determinación de las variables de medición a escala laboratorio	38
VII.	Tratamientos a realizar (2 x 2 x 3)	47
VIII.	Tratamientos a realizar para cada extracto (3 x 2 x 3).....	47
IX.	Datos experimentales para el cálculo del porcentaje de rendimiento del indicador ácido-base natural	53
X.	Total de antocianinas presentes en las muestras y sus respectivos máximos de absorción en la región 200-700 nm	54
XI.	Análisis cromatográfico en capa fina para la detección de estándares de metabolitos secundarios del tipo antocianina	55

XII.	Datos de titulación base fuerte-ácido fuerte y determinación de pK_{ind} utilizando 0,5 ml del indicador (10 gotas).....	55
XIII.	Datos de titulación ácido fuerte-base fuerte y determinación de pK_{ind} utilizando 0,5 ml del indicador (10 gotas).....	56
XIV.	Organización de datos anova.....	58
XV.	Porcentaje de rendimiento de los metabolitos secundarios utilizados como indicador ácido-base natural en base de las variables de operación	61
XVI.	Análisis de varianza anova para la interpretación de la hipótesis de trabajo planteada en base de las variables de operación del rendimiento de los metabolitos secundarios	62
XVII.	Cuantificación promedio del pigmento antociánico mayoritario presentes en la cáscara del rábano rojo (<i>raphanus sativus</i> var), mediante espectros de absorbancia	64
XVIII.	Metabolitos secundarios promedio del tipo antocianina del extracto de la cáscara del rábano rojo (<i>raphanus sativus</i> var) mediante cromatografía en capa fina.....	64
XIX.	Pk_{ind} experimental promedio adicionando diferentes volúmenes del extracto utilizado como indicador ácido-base natural.....	65
XX.	Análisis de varianza anova para la interpretación de la hipótesis de trabajo planteada en base al pK_{ind} aplicando diferentes volumen del indicador ácido-base natural	65

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
A	Absorbancia
HCl	Ácido clorhídrico
IPA	Alcohol isopropílico
E	Coeficiente de extinción
K_a	Constante de un ácido
ϵ	Constante dieléctrica
S^2	Cuadrado medio del error
S_1^2	Cuadrado medio del tratamiento
ρ	Densidad
S	Desviación estándar
Δ	Diferencial
F	F de pruebas para tratamientos
$^{\circ}\text{C}$	Grados Celsius
g	Gramo
H^+	Hidrógeno
NaOH	Hidróxido de sodio
H_i	Hipótesis de investigación
H_o	Hipótesis nula
h	Hora
λ	Longitud de onda
mg	Miligramo
mL	Mililitros

M	Molaridad
nm	Nanómetro
k	Número de tratamientos
PM	Peso molecular
%	Porcentaje
%H_{BS}	Porcentaje de humedad en base seca
pH	Potencial de hidrógeno
pH_o	Potencial de hidrógeno inicial
pK_{ind}	Potencial de la constante experimental del indicador
%Tr	Porcentaje de Transmitancia
\bar{x}	Promedio general
R_x	Relación distancia recorrida por mancha y estándar
R_f	Relación distancia recorrida por mancha y solvente
RPM	Revoluciones por minuto
i	Subíndice para tratamientos
SSA	Suma de cuadrados de tratamientos
SSE	Suma de cuadrados del error
SST	Suma de cuadrados totales
T	Temperatura
t	Tiempo
Y_{ij}^2	Todos los datos de todas las muestras
T_{i*}	Total de tratamiento i
T_{**}	Total general
UV	Ultravioleta
μ	Valor medio

GLOSARIO

Absorbancia	Es la relación entre la intensidad de la luz que incide sobre una muestra y la intensidad de esa misma luz que es transmitida a través de esa muestra.
Ácido	Es toda sustancia que en solución acuosa libera o donar un protón (H^+). Un ácido es una sustancia que produce iones hidrógeno (H^+) en agua.
Antocianina	Son pigmentos de color azulado, rojo fuerte u oscuro o morado que contienen las plantas.
Auxocromos	Agrupaciones atómicas presentes en una molécula que la convierte en un colorante.
Base	Es un ion capaz de aceptar un protón (H^+). Una base es una sustancia que produce iones hidróxido (OH^-) en agua.
Base quinoidal	Estructura química básica de las antocianinas al estar en medio básico, su color característico es azul.
Batocromo	Cambio en la posición de las bandas hacia longitudes de onda mayores del cromóforo, produciendo coloraciones rojas.

Catión flavilio	La estructura química básica de las antocianinas, también llamado 2-fenil-benzopirilio que consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio y un anillo fenólico; al estar en medio ácido, su color característico es rojo.
Chalcona	Cambio en la estructura del catión flavilio al presentar ataque nucleofílico por parte del agua, se forma enseguida de la pseudo base carbinol, el valor de pH al que se forma es de 4,5 y es incoloro.
Coeficiente de extinción	Es una constante relacionada con el área de incidencia del átomo o conjunto de átomos que absorben radiación y la probabilidad de que produzca la absorción.
Constante de acidez	Es una medida cuantitativa de la fuerza de un ácido en solución. Es la constante de equilibrio de una reacción conocida como disociación en el contexto de las reacciones ácido-base.
Constante dieléctrica	Medida de la capacidad de un material a ser polarizada por un campo eléctrico.
Cromóforos	Agrupaciones atómicas en una molécula de tipo orgánico, que da capacidad a las sustancias de ser coloreadas.

Cromógeno	Moléculas que contienen a los cromóforos, sin ser colorantes son capaz de fijarse de manera permanente sobre las fibras textiles.
Espectrofotometría UV	Es la medición de la cantidad de energía radiante que absorbe o transmite un sistema químico en función de la longitud de onda.
Extracción	Separación de los componentes de cualquier sustancia por el contacto con un líquido.
Glicosidación	Es un proceso bioquímico en el que se adiciona una biomoléculas, formadas básicamente por carbono, hidrógeno y oxígeno, a otra molécula. Esta molécula se denomina aceptor.
Hipsocromo	Es un cambio de la posición de las bandas espectrales del espectro de absorción hacia una longitud de onda más corta del cromóforo. Se da un corrimiento al color azul al contar este con una longitud de onda más baja del espectro visible.
Intervalo de viraje	Son los valores de pH entre los cuales un indicado empieza a virar o cambiar el color.
Macerar	Mantener sumergida alguna sustancia sólida en un líquido a la temperatura ambiente, con el fin de ablandarla o de extraer de ella las partes solubles.

Metabolito Secundario	Compuestos químicos sintetizados por las plantas que cumplen funciones no esenciales en ellas, de forma que su ausencia no es fatal para la planta, ya que no intervienen en el metabolismo primario de las plantas.
Principios activos	Compuestos químicos de estructura relativamente compleja, como las antocianinas, que ejercen la acción de tinción.
Pseudobase carbinol	Cambio en la estructura del catión flavilio al presentar ataque nucleofílico por parte del agua, el valor de pH al que se forma es de 4,5 y es incoloro.
Tamizaje	Es una técnica que se utiliza para detectar metabolitos secundarios presentes en especies vegetales, desde el punto de vista cualitativo y se basa en la realización de reacciones químicas con diferentes reactivos, donde la aparición de determinado color o precipitado coloreado o no, es indicativo de la presencia de un determinado metabolito.

Titulación

Es un procedimiento cuantitativo analítico que se utiliza para determinar la concentración desconocida en un líquido añadiéndole reactivos de un contenido conocido.

RESUMEN

En el presente trabajo de graduación se obtuvo y evaluó el extracto de la cáscara del rábano rojo (*Raphanus sativus* var) con solución de alcohol isopropílico para la detección de metabolitos secundarios del tipo antocianina con propiedades cromóforas ácido-base.

El método de extracción utilizado fue el de maceración dinámica a reflujo, el disolvente extractor utilizado fue alcohol isopropílico 83 % acidificado con HCl. La materia fue pretratada para llevarla a un porcentaje de humedad en base seca aproximado del 10 %. La relación solvente extractor y materia prima fue 1:5. Los extractos fueron llevado a pasta deshidrata y reconstituido para evaluarlos como indicador ácido-base natural en titulaciones volumétricas. Las variables de operación a analizar fueron tiempos de extracción, 3 y 6 horas a dos diferentes pH iniciales del disolvente extractor, 3 y 4.

Se determinó el porcentaje de rendimiento del extracto en función de las variables de operación, siendo el mayor 23 053 % para las muestras a un pH₀4 y 6h y el menor 12 965 % para un pH₀3 y 3h de extracción; el rendimiento presenta diferencia significativa al variar el tiempo de extracción pero no al variar el pH₀ del disolvente. El pigmento antociánico mayoritario, calculado mediante espectros de absorbancia, fue la cianidina-3,5-glucósido siendo el de mayor concentración a un pH₀4 y 6h con un valor de 19 275 mg; mediante la técnica de cromatografía en capa fina se identificó, en todas las muestras, antocianinas con el estándar ácido clorogénico. El valor promedio de pK_{ind} en función de las variables de operación y diferentes volúmenes agregados del extracto en las titulaciones volumétricas fue de 8,4.

OBJETIVOS

General

Obtener y evaluar extractos de la cáscara del rábano rojo (*Raphanus sativus* var) con solución de alcohol isopropílico, para la detección de metabolitos secundarios del tipo antocianinas con propiedades cromóforas ácido-base.

Objetivos específicos:

1. Determinar y establecer el porcentaje de rendimiento de los metabolitos secundarios utilizados como indicador ácido-base natural con base en las variables de operación, tiempos de extracción y en función de dos diferentes pH iniciales del extracto.
2. Cuantificar el pigmento antociánico mayoritario presentes en la cáscara del rábano rojo (*Raphanus sativus* var), mediante espectros de absorbancia utilizando espectrofotometría ultravioleta-visible.
3. Identificar los metabolitos secundarios del tipo antocianina del extracto de la cáscara del rábano rojo (*Raphanus sativus* var), mediante la técnica de tamizaje fitoquímico por cromatografía en capa fina.

4. Evaluar titulaciones volumétricas, ácido fuerte-base fuerte y base fuerte-ácido fuerte, para determinar el pK_{ind} experimental adicionando diferentes volúmenes del extracto utilizado como indicador ácido-base natural.

Hipótesis

Hipótesis de trabajo

Es factible evaluar extractos de la cáscara del rábano rojo (*Raphanus sativus* var) utilizando alcohol isopropílico acidificado, para obtener un indicador ácido-base natural en pasta deshidratada, a partir de los metabolitos secundarios del tipo antocianinas y su posterior aplicación en titulaciones ácido-base, así como identificar las antocianinas mediante cromatografía en capa fina y cuantificar el pigmento mayoritario por espectrofotometría UV.

Hipótesis de Investigación: H_{i1}

El porcentaje de rendimiento en la extracción del pigmento antociánico del rábano rojo (*Raphanus sativus* var) puede ser afectado significativamente por el tiempo de maceración dinámica a reflujo.

$$\mu_i \neq \mu_j$$

Donde:

μ_i = valor medio de rendimiento respecto a 3 horas

μ_j = valor medio de rendimiento respecto a 6 horas

Hipótesis nula: H_{o1}

El porcentaje de rendimiento en la extracción del pigmento antociánico del rábano rojo (*Raphanus sativus* var), no puede ser afectado significativamente por el tiempo de maceración dinámica a reflujo.

$$\mu_i = \mu_j$$

Donde:

μ_i = valor medio de rendimiento respecto a 3 horas

μ_j = valor medio de rendimiento respecto a 6 horas

Hipótesis de investigación: H_{i2}

El porcentaje de rendimiento en la extracción del pigmento antociánico de la cáscara de rábano rojo (*Raphanus sativus* var), puede ser afectado significativamente por el pH inicial de extracción en la maceración dinámica a reflujo.

$$\mu_i \neq \mu_j$$

Donde:

μ_i = valor medio de rendimiento respecto a pH 3 inicial de extracción

μ_j = valor medio de rendimiento respecto a pH 4 inicial de extracción

Hipótesis nula: H_{o2}

El porcentaje de rendimiento en la extracción del pigmento antociánico del rábano rojo (*Raphanus sativus* var), no puede ser afectado significativamente por el pH inicial de extracción en la maceración dinámica a reflujo.

$$\mu_i = \mu_j$$

Donde:

μ_i = valor medio de rendimiento respecto a pH 3 iniciales de extracción

μ_j = valor medio de rendimiento respecto a pH 4 iniciales de extracción

Hipótesis de investigación: H_{i3}

El pH de viraje experimental del indicador ácido-base natural, pKa del indicador, puede ser afectado significativamente por el volumen del indicador utilizado en las titulaciones ácido-base, a diferentes pH iniciales de extracción.

$$\mu_i \neq \mu_j \neq \mu_z$$

Donde:

μ_i = valor medio de pK_{ind} respecto al volumen del indicador, 0,5 mL (10 gotas)

μ_j = valor medio de pK_{ind} respecto al volumen del indicador, 1 mL (20 gotas)

μ_z = valor medio de pK_{ind} respecto al volumen del indicador, 1,5 mL (30 gotas)

Hipótesis nula: H_{03}

El pH de viraje experimental del indicador ácido-base natural, pKa del indicador, no puede ser afectado significativamente por el volumen del indicador utilizado en las titulaciones ácido-base, a diferentes pH iniciales de extracción y tiempos de maceración.

$$\mu_i = \mu_j = \mu_z$$

Donde:

μ_i = valor medio de pK_{ind} respecto al volumen del indicador, 0,5 mL (10 gotas)

μ_j = valor medio de pK_{ind} respecto al volumen del indicador, 1 mL (20 gotas)

μ_z = valor medio de pK_{ind} respecto al volumen del indicador, 1,5 mL (30 gotas)

INTRODUCCIÓN

Los desechos químicos tienen un gran impacto sobre el entorno y principalmente contaminan las aguas. Por lo tanto se busca proponer nuevos compuestos naturales para reemplazar los sintéticos. Los colorantes naturales de origen vegetal están formados por: las antocianinas, las betaninas, el caramelo, los carotenoides, las clorofilas y clorofilinas, la curcumina, las xantofilas y el carbón vegetal. Las antocianinas pertenecen a la clase de flavonoides. A nivel químico, se han sintetizado sustancias orgánicas que al contacto con otras de características ácidas o básicas, reaccionan produciendo coloraciones específicas. Las sustancias responsables de la variación del color son las antocianinas y curcuminas presentes en los materiales empleados como indicadores.

Las antocianinas se localizan principalmente en la piel de las frutas como manzanas, peras, uvas, rábanos, zarzamoras, ciruelas, de flores como jamaica, rosas y verduras como col morada y cebolla morada. Se han realizado algunos estudios sobre las gamas de colores debido a los cambios de pH en muestras, esto último ha surgido como tema para la investigación de indicadores naturales ácido-base mediante extracciones de col morada (*Brassica oleracea*), rosa (*Rosa sp*), quelite (*Amaranthus hybridus L.*) y jamaica (*Hibiscus sabdariffa*).

Como características generales de estos compuestos se debe señalar la solubilidad que poseen las antocianinas en agua y en etanol, su carácter fenólico y su intensa absorción en la región ultravioleta y visible del espectro debido a la presencia de sistemas aromáticos y conjugados.

El rábano rojo originario de Asia, se cultiva en todas las regiones de la tierra. Su nombre científico es *Raphanus sativus* var. Se propaga por semillas. En Guatemala se cultiva en regiones elevada, montañas o en regiones periurbanas, procurando un buen suministro de sol, agua y nutrientes. Cultivarlo en diferentes medios produjo diferenciación dentro de la especie el más especial es el rabanito o rábano rojo seguido por el rábano blanco y el rábano negro, los tamaños desde el rabanito rojo al daikon (rábano grande, forma alargada y gruesa). Los rábanos necesitan riego regular. La temperatura óptima de germinación está entre 20-25 °C. El pH del suelo debe oscilar entre 5,5 y 6,8. No tolera la salinidad. La cosecha se realiza entre tres y seis semanas después de la siembra. Se conservan entre 2 y 5 °C y una humedad relativa entre el 90 y 96 %.

Los indicadores ácido-base son ácidos (o bases) orgánicos débiles o muy débiles, cuya principal característica consiste en que su color difiere del correspondiente a la base (o ácido) conjugada. Una de las dos formas debe de exhibir color. Cuando una de las formas es incolora, al indicador se le describe como de un solo color, en contraste con los indicadores de dos colores. Cada indicador varía de color en un intervalo definido de pH, llamado intervalo de transición. La posición de este intervalo en la escala de pH depende de la constante de acidez (o basicidad) del propio indicador.

Con valores de pH inferiores y superiores a los de su intervalo de transición, el indicador está presente predominantemente en forma ácida y en forma alcalina, respectivamente. Cuando menos una de las formas del indicador debe exhibir una coloración intensa, de forma tal que le imparta a la solución titulada una coloración claramente visible, aun a las concentraciones del indicador sean muy bajas en comparación de la solución básica a ácida.

1. ANTECEDENTES

En mayo de 2000, se realizó el proyecto *Extracción de naringina (Citrus paradisi L). Estudio comparativo y optimización de técnicas extractivas*, por la investigadora principal, Amelia N. Giannuzzo, asociada con los investigadores, Mónica A. Nazareno, Horacio T. Mishima y Beatriz A. López de Mishima, en el Instituto de Ciencias Químicas, Facultad de Agronomía y Agroindustrias. Universidad Nacional de Santiago del Estero, Santiago del Estero, Argentina. La investigación consistió en el estudio comparativo de distintas técnicas extractivas de naringina utilizando cáscaras de pomelo (*Citrus paradisi L.*). Se determinaron los valores de concentración de naringina. Los resultados obtenidos de esta investigación reflejan que para la cáscara fresca resulta más conveniente la extracción por Soxhlet, mientras que para cáscara seca la extracción por maceración y reflujo con la mezcla etanol-agua en las proporciones 70:30.

En abril de 2005, se realizó el estudio titulado *Extracción, cuantificación y estabilidad de colorantes naturales presentes en los frutos de cereza (Prunus capuli Cav.), mora (Rubus urticaefolius Poir) y saúco (Sambucus canadensis L.) como alternativas naturales de consumo de los colorantes artificiales Rojo No.40, Rojo No.3 y Rojo No.2, en bebidas en el rango de pH: 3, 4 y 5*, realizado por Lic. Qco. Walter Vinicio Fuentes Miranda, con asesoramiento de Ph. D. Oscar Manuel Cóbar Pinto, realizada en la Universidad de San Carlos de Guatemala por la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. La investigación consistió en la extracción de los pigmentos antociánicos que se encuentran en los frutos de cereza, mora y saúco utilizando la técnica de maceración en frío (extracción sólido-líquido), se cuantificaron dichos pigmentos y se evaluó la

estabilidad a diferentes valores de temperatura (30 °C y 50 T) y pH (4 y 5) utilizando espectrofotometría ultravioleta-visible. Se determinó que únicamente los pigmentos presentes en los frutos de cereza pH 4 y 5, mora pH 5 y saúco pH 5, presentan las características para ser utilizados como alternativas naturales del colorante artificial rojo núm. 2 en bebidas comprendidas en el rango de pH 4 y 5.

En enero de 2010, en el Instituto Politécnico Nacional, para obtener el título de Maestro en Ciencia en Alimentos, se realizó el estudio titulado *Extracción de compuestos fenólicos de las cáscaras de cítricos producidos en México*, realizado por la Inga. Química Mónica Escobar Blanco. El objetivo de este trabajo fue extraer y cuantificar el contenido fenólico de las cáscaras de siete cítricos cultivados en México, así como su actividad antioxidante (AA). Esto se determinó evaluando el mejor sistema de extracción de los compuestos fenólicos mayoritarios, teniendo como variables la temperatura de extracción, la concentración del disolvente (etanol) y el tiempo de extracción.

La identificación y cuantificación de los compuestos mayoritarios se realizó mediante la técnica de HPLC. En los resultados se obtuvo que en la naranja agria presentó un mayor contenido fenólico seguida de la lima y el limón mexicano (25, 14 y 12 g/100 g b.s., respectivamente). Se identificó hesperidina en todos los cítricos, a excepción de la toronja. La naranja agria y la toronja presentaron el contenido más alto de naringina.

En mayo de 2010, en la Universidad de San Carlos de Guatemala, para obtener el título de Ing. Químico, se realizó el estudio titulado *Propiedades de los colorantes naturales secados con técnicas alternativas Al FD&C Rojo No. 40 en Alimentos*. Realizado por el estudiante Victor Manuel Aceituno Melgar y asesorado por el Ing. Qco. Jorge Emilio Godínez Lemus. La investigación

consistió en evaluar las propiedades colorantes de los extractos vegetales en polvo obtenidos del mesocarpio de la pitahaya (*Hylocereus undatus*), la raíz de la remolacha (*Beta vulgaris*) y los cálices de rosa de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) con el secado convencional al vacío y liofilización. Los colorantes se extrajeron con maceración dinámica a temperatura ambiente y presión de 22.7 kPa en la relación 1 kg de materia fresca en 5 L de agua.

El secado al vacío de los extractos acuosos de pitahaya (*H. undatus*) y rosa de jamaica (*H. sabdariffa* L.) se realizó a 60 °C y 37,8 – 48,8 kPa. El secado al vacío de remolacha (*B. vulgaris*) fue a 40 °C y 37,8 – 43,75 kPa. La temperatura de liofilización fue de –30 °C y la presión absoluta 0,4 kPa (3 Torr). Los resultados obtenidos en la investigación evidencian que la liofilización es la técnica de secado que mejor preserva las características colorantes de los colorantes en secos obtenidos y que los colorantes obtenidos de las tres especies son alternativas al colorante sintético FD&C rojo núm. 40.

En diciembre de 2011, en la Universidad Veracruzana, para obtener el título de ingeniero químico, se realizó el estudio titulado *Estudio de la estabilidad y conservación de extractos acuosos y etanólicos usados como indicador acido-base a partir de col morada (Brassica olerácea), jamaica (hibiscus sabdariffa), quelite (amaranthus hybridus l.) y rosa royal william (rosa sp)*, realizado por la estudiante Aris Ángel Beltrán Hernández. La investigación consistió en buscar un indicador acido-base natural que sustituya a los indicadores sintéticos, a través de los métodos de extracción: arrastre por vapor, maceración dinámica con agua, maceración dinámica con etanol, variando el tiempo y la temperatura de extracción.

En los resultados se indicaron que los extractos etanólicos son más efectivos, ya que estos mostraron una vida de anaquel más larga a

comparación de los acuosos (mayor a 128 días), para las tres materias primas utilizadas. Sin embargo únicamente el extracto de la rosa royal en refrigeración y con mayor tiempo de maceración obtuvo rangos de viraje totalmente visibles y similares al de la fenolftaleína.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Materia prima

Componente principal de los cuerpos, susceptible de toda clase de formas y de sufrir cambios, que se caracteriza por un conjunto de propiedades físicas o químicas, perceptibles a través de los sentidos.

2.1.1. Generalidades del fruto de rábano rojo (*Raphanus sativus* var)

El rábano rojo originario de Asia, se cultiva en todas las regiones de la tierra. Su nombre científico es de *Raphanus sativus* Var. Se propaga por semillas. Estas semillas son redondeadas, de color amarillento a pardo rojizo y de tamaño pequeño a medio. Su tallo es breve antes de la floración, con una roseta de hojas. Posteriormente, cuando florece la planta, se alarga alcanzando una altura de 0,50 a 1 m, de color glauco y algo pubescente. Sus hojas son la base y tronco de la planta con unos pocos pelos cubiertos con 1-3 pares de segmentos laterales de borde irregularmente dentado; sus flores casi siempre blancas, a veces rosadas o amarillentas, con nervios violáceos o púrpura.

Su fruto es seco, simple de 3 a 10 cm de largo, cilíndrico y biarticulado formado por dos partes, la inferior atrofiada con una o dos semillas globosas, rosadas a castaño claro, y la superior corchosa, cónica-alargada que contiene de 12 a 14 semillas incluidas en un parénquima esponjoso. En Guatemala se cultiva en regiones elevada, montañas o en regiones periurbanas, procurando un buen suministro de sol, agua y nutrientes, al cultivarlo en diferentes medios

produjo diferenciación dentro de la especie el más especial es el rabanito o rábano rojo seguido por el rábano blanco y el rábano negro, los tamaños desde el rabanito rojo al daikon (rábano grande, forma alargada y gruesa).

Los rábanos rojos crecen mejor cuando se plantan durante las temperaturas más frescas de la temporada de primavera. Los rábanos necesitan riego regular. El desarrollo vegetativo tiene lugar entre los 6 °C y los 30 °C, el óptimo se encuentra entre 18-22 °C. La temperatura óptima de germinación está entre 20-25 °C.

El pH del suelo debe oscilar entre 5,5 y 6,8. No tolera la salinidad. A los 15 o 20 días de la siembra es conveniente aclarar las plantas, dejando los rabanitos distanciados a 5 cm. La cosecha se realiza entre tres y seis semanas después de la siembra. El rábano rojo contiene vitaminas (A, B, C), hierro, magnesio, calcio, fósforo, yodo, potasio, sodio, histidina. Es estimulante y eficaz como antiséptico. Existen dos formas de comercialización: en manojos con hojas y limpios, es decir, sin hojas ni raíces usualmente para exportación. Los rábanos o rabanitos rojos se transportan a las unidades de procesado en contenedores de plástico o remolques. Se conservan entre 2 y 5 °C y una humedad relativa entre el 90 y 96 %.

Figura 1. **Fruto de rábano rojo**



Fuente: *Propiedades físicas del rábano.*

<http://www.infoagro.com/hortalizas/rabano.htm>. Consulta: 10 de octubre de 2014.

2.1.2. Colorantes naturales de origen vegetal

Según su origen, los colorantes naturales son pigmentos coloreados obtenidos de materia prima principalmente animal y vegetal, aunque también los hay de tipo mineral. Los colorantes naturales de origen vegetal están formados por: las antocianinas, las betaninas, el caramelo, los carotenoides, las clorofilas y clorofilinas, la curcumina, las xantofilas y el carbón vegetal. Las antocianinas pertenecen a la clase de flavonoides.

2.1.2.1. Los extractos naturales en la determinación del pH

A nivel químico, se han sintetizado sustancias orgánicas que al contacto con otras de características ácidas o básicas, reaccionan produciendo coloraciones específicas. Comercialmente se encuentran sustancias que reaccionan produciendo color en rangos de pH específicos, como los relacionados en la siguiente tabla.

Tabla I. Algunos indicadores ácido-base

INDICADOR	RANGO DE PH	COLOR	
		ÁCIDO	BÁSICO
Amarillo de metilo	2,9 – 4	Rojo	Amarillo
Fenolftaleína	8 – 10	Incoloro	Violeta
Rojo de metilo	4,2 – 6,2	Rojo	Amarillo
Rojo de fenol	6,4 - 8	Amarillo	Rojo
Tornasol	4,5 – 8	Rojo	Azul

Fuente: *Indicadores ácido-base*. <http://quimica.laguia2000.com/general/indicadores-acido-base>.

Consulta 19 de agosto de 2015.

Además de los anteriores indicadores, existen otros que no son usados comercialmente y que se obtienen a partir de materiales vegetales como la col lombarda, los pétalos de rosa y el curry, aprovechando el cambio de viraje que sufren al contacto con sustancias de carácter ácido o básico. Las sustancias responsables de la variación del color son las antocianinas y curcuminas presentes en los materiales empleados como indicadores.

2.2. Antocianinas

Las antocianinas son pigmentos hidrosolubles que se hallan en las vacuolas de las células vegetales y que otorgan el color rojo, púrpura o azul a las hojas, flores y frutos.

2.2.1. Generalidades

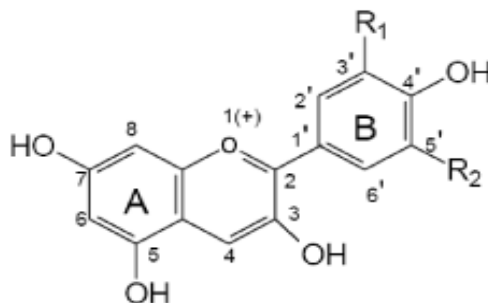
Las antocianinas del griego *anthos* (flor) y *kyanos* (azul) son el grupo más importante de pigmentos solubles al agua visibles para el ojo humano. Las antocianinas forman parte de la familia de polifenoles y se definen como flavonoides. Los colores rosa, rojo, azul, malva y violeta de las flores, frutas y verduras se deben a la presencia de estos pigmentos.

Las antocianinas se localizan principalmente en la piel de la frutas, como: manzanas, peras, uvas, rábanos, zarzamoras, ciruelas; flores, como: Jamaica, rosas y verduras, como: col morada y cebolla morada. La función que cumplen es la de atraer seres vivos (principalmente insectos y pájaros) para propósitos de polinización y dispersión de semillas.

2.2.2. Estructura

Las antocianidinas (agliconas) son la estructura básica de las antocianinas (ver figura 2). Constan de un anillo aromático (A) unido a un anillo heterocíclico (C) que contiene oxígeno, el cual está unido por un enlace carbono-carbono a un tercer anillo aromático (B). El esqueleto básico de las antocianinas es el 2-fenilbenzopirilio de la sal de flavilio con sustituciones. Cuando las antocianidinas están en su forma glicosidada se conocen como antocianinas. Los monosacáridos comúnmente encontrados son D-glucosa, L-ramnosa, D-arabinosa y D-xilosa (ver figura 3) aunque también pueden contener oligosacáridos como gentobiosa, rutinosa y soforosa. Normalmente los monosacáridos se unen con los grupos hidroxilo de la posición 3 de la antocianidina, mientras que los disacáridos sustituyen los hidroxilos 3 y 5 o los de la posición 3 y 7.

Figura 2. Estructura y sustituyentes de las antocianinas



Fuente: *Generalidades de antocianinas*.

<http://www.bdigital.unal.edu.co/5351/1/197518.2011.pdf>. Consulta: 24 de marzo de 2015.

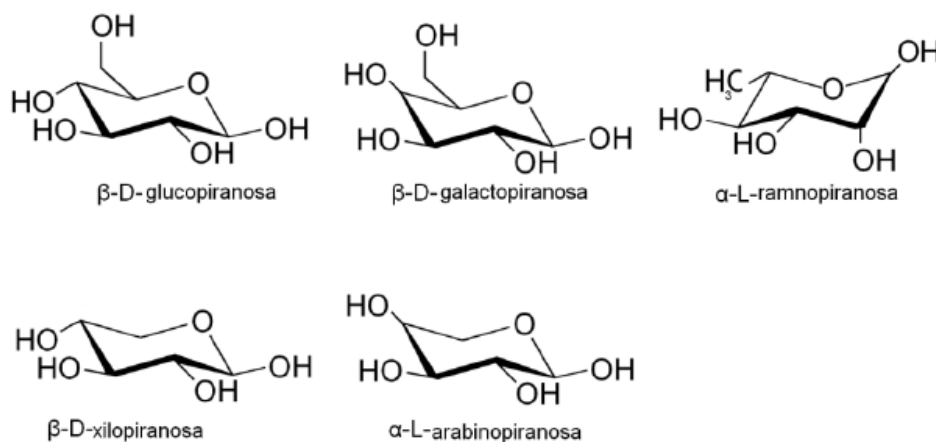
Tabla II. **Antocianidinas conocidas según la variaciones estructurales del anillo B de la figura 2**

Aglicona	Substitución		λ max (nm)
	R1	R2	Espectro visible
Pelargonidina	H	H	494 (naranja)
Cianidina	OH	H	506 (naranja-rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (azul-rojo)
Peonidina	OCH3	H	506 (naranja-rojo)
Petunidina	OCH3	OH	508 (azul-rojo)
Malvidina	OCH3	OCH3	510 (azul-rojo)

Fuente: *Estructura y sustituyentes de las antocianinas.*

<http://www.bdigital.unal.edu.co/5351/1/197518.2011.pdf>. Consulta: 24 de marzo de 2015.

Figura 3. **Estructura de los monosacáridos más comunes encontrados en las estructuras de las antocianinas**



Fuente: *Generalidades de antocianinas.*

<http://www.bdigital.unal.edu.co/5351/1/197518.2011.pdf>. Consulta: 24 de marzo de 2015.

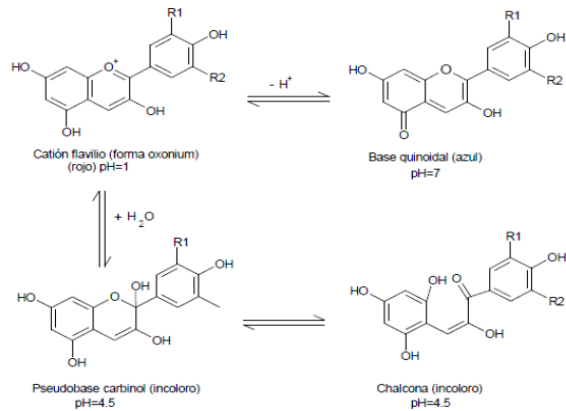
2.2.3. Factores que afectan la estabilidad de las antocianinas

A pesar de las ventajas que las antocianinas ofrecen como posibles sustitutos de los colorantes artificiales, su incorporación a matrices alimenticias o productos farmacéuticos y cosméticos son limitadas debido a su baja estabilidad durante el procesamiento y el almacenamiento. Dentro de las condiciones que hacen variar la estabilidad de las antocianinas se encuentran los siguientes: temperatura, pH, concentración, azúcares, actividad del agua, metales, enzimas, oxígeno y ácido ascórbico, presencia de copigmentos (copigmentación) y luz.

2.2.3.1. Efecto del pH en las antocianinas

El pH tiene efecto en la estructura y la estabilidad de las antocianinas. Este es uno de los factores más importantes. Las antocianinas son más estables en un medio ácido que en un medio neutro o alcalino. La acidez tiene un efecto protector sobre la molécula. En medio ácido la forma predominante es la del ión flavilio, el cual da el color rojo, cuando esta es sometida a pH básico o alcalino, el ión flavilio es susceptible al ataque nucleofílico por parte del agua, produciéndose la pseudobase carbinol, esto es a pH 4,5 y seguido se forma la chalcona, las dos formas son incoloras. El color de estas moléculas fue explicado por primera vez en 1939 por Pauling, quien propuso que la estructura resonante del ión flavilio era el responsable de la intensidad de su color.

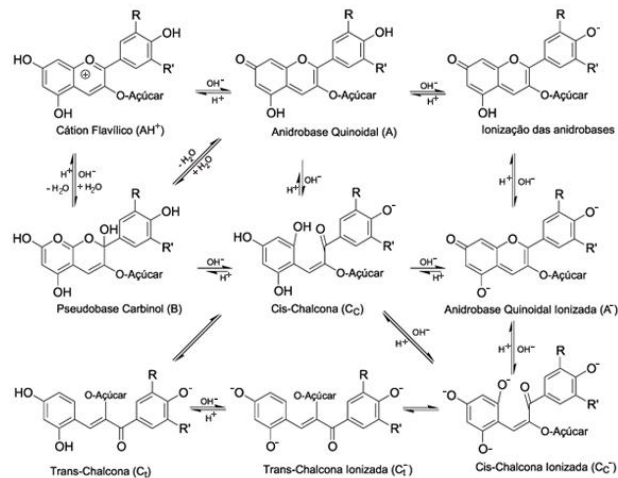
Figura 4. **Cambios en la estructura de las antocianinas a diferentes valores de pH**



Fuente: *Generalidades de antocianinas.*

<http://www.bdigital.unal.edu.co/5351/1/197518.2011.pdf>. Consulta: 24 de marzo de 2015.

Figura 5. **Cambios en la estructura de las antocianinas en medio acuoso en función del pH**



Fuente: *Estructuras antocianicas.*

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422008000500051. Consulta:

23 de marzo de 2015.

2.2.4. Análisis de antocianinas por espectrofotometría UV-visible

La espectrofotometría UV-visible es la medición de la cantidad de energía radiante que absorbe o transmite un sistema químico en función de la longitud de onda, esto se debe a la transición de los electrones más externos de los átomos de las moléculas, desde niveles fundamentales a niveles altos de energía. Las moléculas pueden interaccionar con radiaciones electromagnéticas de un rango muy amplio de longitudes de onda, dando lugar a distintos tipos de espectroscopías según las diferentes regiones, en el caso de la UV, la región está comprendida de los 100 a 1 000 nm.

Si se hace incidir radiación monocromática sobre una muestra con una concentración "C" de una sustancia que absorbe a esa longitud de onda " λ ", la intensidad de la radiación que la atraviesa, "I", está relacionada con la intensidad incidente y con el espesor de la muestra, así es como aparece la llamada ley de Lambert-beer, que es una de las más utilizadas al trabajar la espectrofotometría UV, siendo la siguiente ecuación la que la describe.

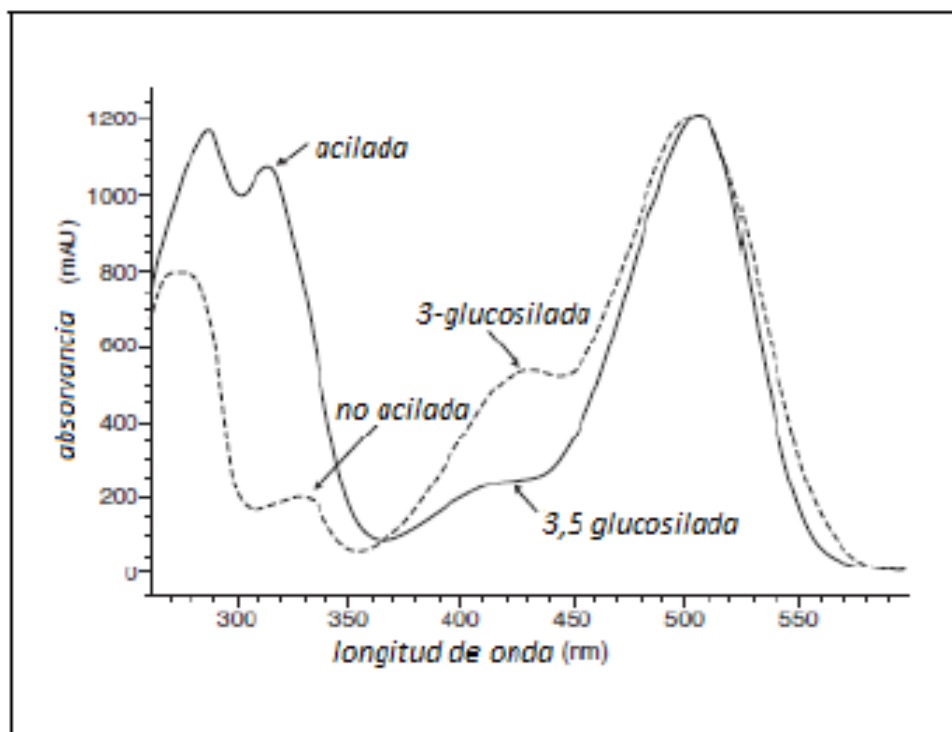
$$A = E * l * C$$

Debido a su estructura, las antocianinas presentan máximos de absorción tanto en la región visible como en la ultravioleta, lo que resulta muy importante para la caracterización estructural de dichos compuestos. Sus espectros de absorción se caracterizan por tener dos bandas separadas una en la región visible entre 465 y 550 nm y otra más pequeña en el UV alrededor de 275 nm.

Es así como se pueden identificar las antocianinas por su absorción en la región visible. Así por ejemplo, entre (λ_{max} 520 nm) de la pelargonidina y de la

pelargonidina-3-glucósido (505 nm), ocurre un desplazamiento de $\Delta \lambda$ de 15/nm; entre cianidina (λ_{\max} 535 nm) y cianidina-3-glucósido (λ_{\max} 523 nm) un $\Delta \lambda$ de 12/nm, entre delphinidina (λ_{\max} 544) y delphinidina-3-glucósido (λ_{\max} . 534 nm) un $\Delta \lambda$ de 10/nm. Los derivados acilados no muestran diferencia con respecto a los correspondientes no acilados en la zona del visible. Sin embargo, en la región del ultravioleta suelen presentar un máximo adicional en el intervalo de λ 310-335 nm, correspondiente a la absorción del grupo acilo.

Figura 6. **Espectros UV-Visible de las antocianinas aciladas y 3,5-glucosiladas (línea continua); no aciladas y 3-glucosiladas (línea discontinua)**



Fuente: *Análisis químico de antocianinas en frutos por espectrofotometría.*

<http://www.bdigital.unal.edu.co/5351/1/197518.2011.pdf>. Consulta: 24 de marzo de 2015.

2.2.4.1. Cuantificación

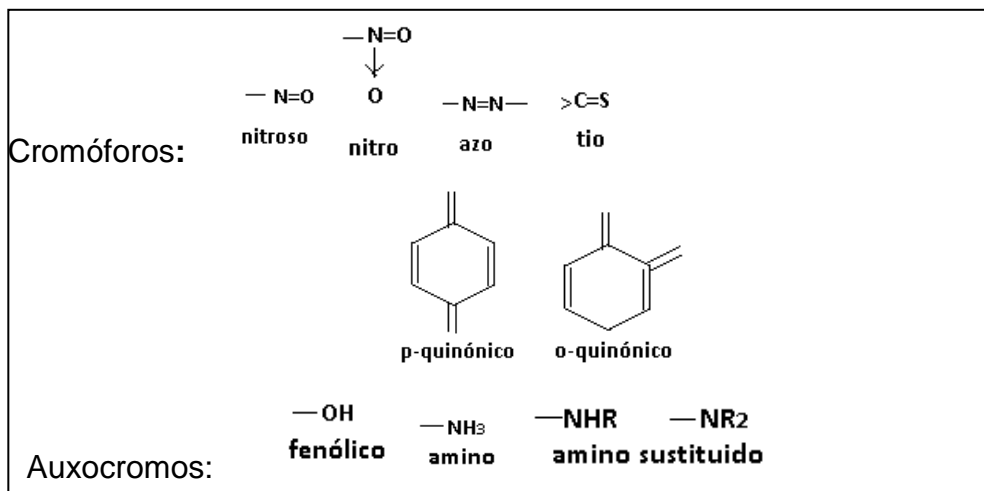
Se han descrito numerosos métodos para la determinación de antocianinas cuantitativamente en los alimentos, el análisis total de antocianinas en el producto fresco es relativamente sencillo. Solo requiere la maceración de la muestra en metanol o etanol ácido, una alícuota de la solución y la absorción máxima en la región visible del espectro electromagnético. La concentración del pigmento se determina a partir de los valores de ϵ (coeficiente de extinción) reportados teóricamente.

El total de antocianinas puede determinarse en extractos crudos que contienen compuestos fenólicos, esto se logra midiendo la absorbancia a una longitud de onda. Esto es posible porque las antocianinas tienen un máximo de absorción en la región de 510-550 nm y el grupo de compuestos con máximos de absorción más cercano a este rango son los flavonoides con máximos de absorción en la región de 350-380 nm.

2.2.5. Variaciones por efectos mesoméricos (resonancia y tautomería) del color de las antocianinas en solución en función del pH del medio

Las sustancias orgánicas son siempre compuestos insaturadas. En 1876, Witt explica el color en las sustancias orgánicas por la presencia de ciertas agrupaciones atómicas en la molécula, llamadas cromóforos; la molécula que los contiene se llama cromógeno y es una sustancia coloreada, pero no un colorante, es decir, capaz de fijarse de manera permanente sobre las fibras textiles. Para que posea esta cualidad se necesita la presencia en la molécula de otras agrupaciones atómicas, los auxocromos.

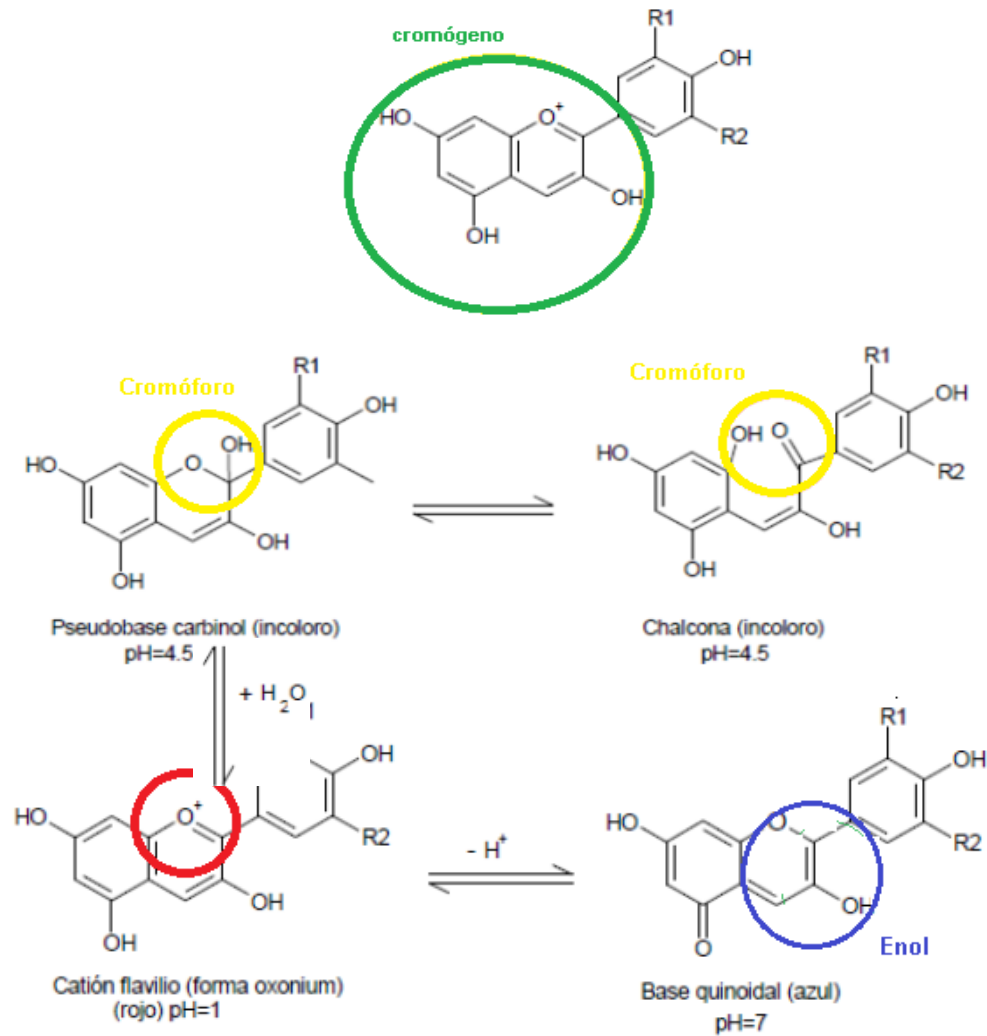
Figura 7. **Los grupos cromóforos y auxocromos más comunes**



Fuente: DEVORE, G. *Química orgánica*. p. 645.

Para el caso de las antocianinas los cromóforos se presentan en sistemas conjugados, los niveles de energía que alcanzan los electrones son orbitales y generados a partir de series de enlaces simples y dobles alternados, como sucede en los sistemas aromáticos.

Figura 8. **Identificación de cromógeno y cromóforo de las antocianinas y sus variaciones por efectos mesoméricos**



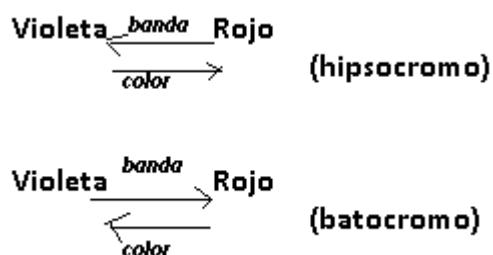
Fuente: *Generalidades de antocianinas.*

<http://www.bdigital.unal.edu.co/5351/1/197518.2011.pdf>. Consulta: 24 de marzo de 2015.

Además de los grupos considerados, existen otros que convierten el colorante, generalmente insoluble en agua, en soluble y son los grupos salificables: sulfónico (-SO₃H) y carboxilo (-CO.OH).

En cuanto a los grupos cromóforos, cabe añadir que si la introducción en la molécula de uno de estos grupos determina un corrimiento de las bandas de absorción hacia el violeta, el color (que ha de resultar el complementario) se corre hacia el rojo (se aclara) y el grupo se llama hipsocromo (que sube). Por el contrario si el corrimiento de las bandas se efectúa hacia el rojo, el color lo hace hacia el violeta (se profundiza) y el grupo cromóforo se llama batocromo, como se indica en la figura 9.

Figura 9. **Corrimiento de barras de absorción en grupos cromóforos**



Fuente: DEVORE, G. *Química orgánica*. p. 646.

2.2.6. Cromatografía en capa fina

La cromatografía es un método físico de separación basado en la distribución de los componentes de una mezcla entre dos fases inmiscibles, una fija o estacionaria y otra móvil.

En todas las separaciones cromatográficas la muestra se disuelve en una fase móvil, que puede ser un gas un líquido o un fluido supercrítico. Esta fase móvil se hace pasar a través de una fase estacionaria inmiscible, la cual se mantiene fija en una columna o sobre una superficie sólida. Las fases se eligen de tal forma que los componentes de la muestra se distribuyen de modo

distinto entre la fase móvil y la fase estacionaria. Aquellos componentes que son retenidos con más fuerza por la fase estacionaria se mueven lentamente con el flujo; por el contrario los componentes que unen débilmente a la fase estacionaria, se mueven con rapidez. Como consecuencia de la distinta movilidad, los componentes de la muestra se separan en bandas discriminadas que pueden analizarse cualitativa o cuantitativamente.

La técnica cromatográfica se utiliza con frecuencia para identificación de metabolitos secundarios, como los flavonoides y sus derivados que utiliza una placa inmersa verticalmente. Esta placa cromatográfica consiste en una fase estacionaria polar (comúnmente se utiliza sílica gel) adherida a una superficie sólida. La fase estacionaria es una capa uniforme de un absorbente mantenido sobre una placa, la cual puede ser de vidrio, aluminio u otro soporte. Para realizar la cromatografía de capa fina, se debe apoyar la placa cromatográfica sobre algún recipiente o cámara que contenga la fase líquida de aproximadamente un centímetro (la distancia entre el principio de la placa y la muestra que se desea analizar).

2.3. Transferencia de masa como operación unitaria

Una parte importante de las operaciones unitarias en ingeniería química está relacionada con el problema de modificar la composición de soluciones y mezclas mediante métodos que no impliquen, necesariamente, reacciones químicas. Por lo común estas operaciones se encaminan a separar las partes componentes de una sustancia. Si las operaciones cambian la composición de soluciones, entonces se conocen como operaciones de transferencia de masa. Las operaciones de transferencia de masa se caracterizan por transferir una sustancia a través de otras a escala molecular. Por ejemplo, cuando el agua, por evaporación, pasa de una alberca a una corriente de aire que fluye sobre la

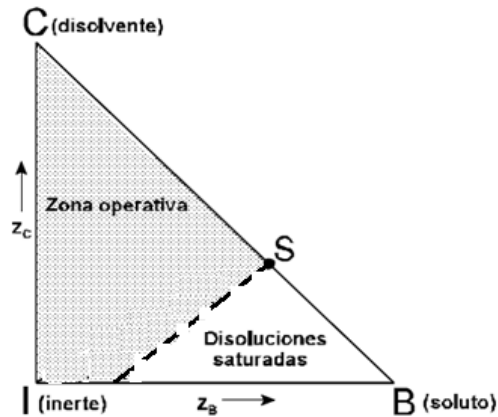
superficie del agua, las moléculas de vapor de agua se difunden, a través de las moléculas de aire en la superficie, dentro de la masa de la corriente de aire, la cual las arrastra consigo.

2.3.1. Extracción sólido-líquido

La extracción es una operación de separación por transferencia de materia en la que se ponen en contacto dos fases inmiscibles, con objetivo de transferir uno o varios componentes de una fase a otra. Si la mezcla original está en fase sólida y se pretende separar de ella un componente "*soluto*" de otro "*inerte*" mediante su contacto con una fase líquida (disolvente) que lo disuelve selectivamente, se habla de una extracción sólido-líquido o lixiviación.

Para realizar la extracción será necesario, en primer lugar, poner en contacto íntimo las dos fases hasta conseguir la transferencia de soluto de la mezcla original al disolvente. Una vez finalizada esta etapa de transporte de materia, se procede a la separación de las fases, obteniéndose una mezcla de disolvente y soluto llamada extracto y una mezcla de la que se ha extraído el soluto, denominada refinado, que estará formada por la fase sólida inerte con una parte de la disolución retenida. El análisis del proceso de extracción sólido-líquido generalmente se lleva a cabo sobre un diagrama triangular, al tratarse de un sistema ternario, que a una presión y a una temperatura determinada se representa mediante un triángulo rectángulo isósceles, tal como se indica en la siguiente figura.

Figura 10. Diagrama ternario extracción sólido-líquido



Fuente: *Transferencia de materia*. <http://fjarabo.webs.ull.es/Practics/Oba/ObaFiles/AMater.pdf>.

Consulta: 17 de marzo de 2015.

En los vértices del triángulo se representan los componentes puros, reservándose el ángulo recto para el sólido inerte (I) y, en el sentido de las agujas del reloj, el disolvente líquido (C) y el soluto sólido (B). Los lados representan mezclas binarias de los componentes de los vértices correspondientes y los puntos interiores al triángulo representan mezclas ternarias. Cualquier punto del triángulo corresponde a una composición expresada en fracciones másicas (o molares): si se trata de una composición de la fase extracto se suele representar como (y_B, y_C) , mientras que si es una composición de la fase refinado se representa como (x_B, x_C) . Obsérvese que al operar en concentraciones fraccionales, cualquier punto de la fase refinado ha de cumplir:

$$X_I + X_B + X_C = 1$$

Mientras que para la fase extracto, al no haber inerte, se cumplirá:

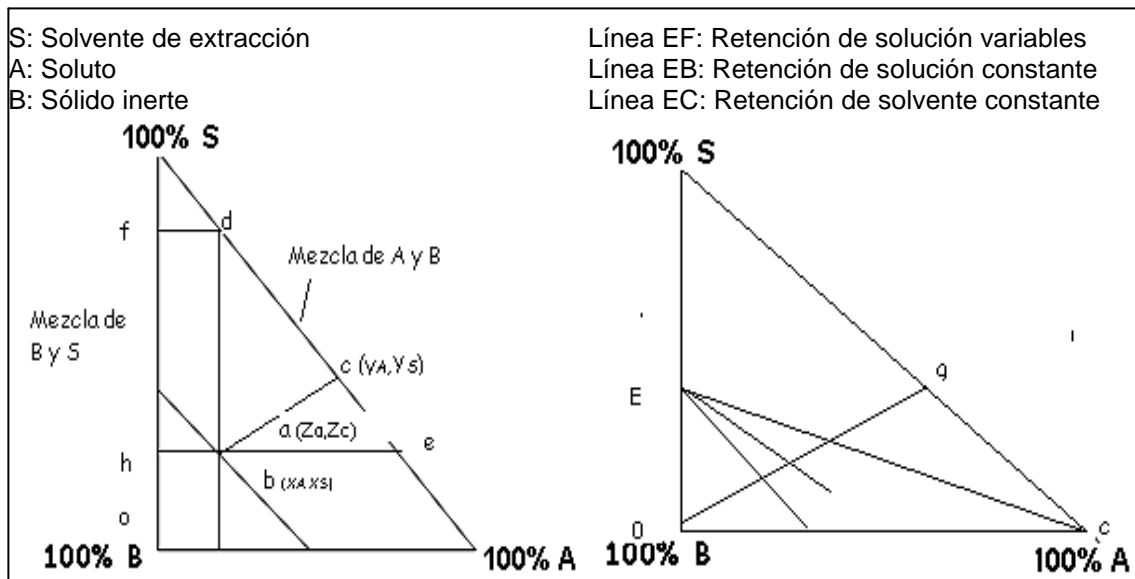
$$Y_B + Y_C = 1$$

Si el soluto no es totalmente soluble en el disolvente, existirá una concentración de saturación a la temperatura del sistema, representada por un punto tal como el S sobre el diagrama triangular. Cualquier mezcla de inerte y disolución saturada se hallará situada sobre el segmento IS, que divide al diagrama ternario en dos zonas:

- La situada a la derecha del segmento IS, que representa a todas las mezclas en las cuáles las disoluciones representadas están saturadas, ya que todos los puntos de esta zona representan fracciones del soluto mayor a los correspondientes valores de saturación.
- La situada a la izquierda del segmento IS, que representa a todas las mezclas en las cuáles las disoluciones representadas no están saturadas, ya que todos los puntos de esta zona representan fracciones del soluto menores a los correspondientes valores de saturación.

En casi todas las extracciones sólido-líquido se obtiene una sola disolución no saturada, ya que se trata siempre de conseguir una elevada recuperación del soluto o de producir un sólido inerte lo más libre posible de soluto, es decir, siempre se operará con la suficiente cantidad de disolvente como para que se pueda obtener disoluciones no saturadas. Por tanto, en el diagrama triangular se trabajará en la zona de disoluciones no saturadas que será, pues, la zona operativa.

Figura 11. Diagrama de equilibrio (triángulo rectángulo)



Fuente: *Extracción sólido-líquido.*

<https://www.google.com.gt/search?q=extracci%C3%B3n+sólido+líquido+diagrama+de+equilibrio+triángulo+rectángulo>. Consulta: 17 de febrero de 2015.

2.3.2. Métodos de extracción de antocianinas

La extracción de pigmentos naturales debe llevarse a cabo teniendo en cuenta los factores que pueden afectar la integridad de los mismos; por lo cual este es un paso muy importante debido a que los resultados obtenidos dependen en gran parte del proceso de extracción realizado.

Las antocianinas son compuestos solubles en solventes polares y comúnmente se extraen de sus fuentes naturales, usando metanol o etanol con pocas cantidades de algunos ácidos como ácido clorhídrico, acético y fórmico, ya que el ácido mantiene el pH ácido lo que previene el desplazamiento de los equilibrios químicos de hidratación y formación de chalconas. Adicionalmente,

el uso de ácidos débiles previene la degradación de las antocianinas no aciladas las cuales presentan mayor labilidad. Sin embargo, durante el proceso de evaporación del solvente acidificado puede ocurrir degradación de las antocianinas aciladas, por la hidrólisis parcial o total de los ácidos enlazados a los azúcares, especialmente en antocianinas aciladas con ácidos dicarboxílicos como el ácido malónico. Por lo anterior, se recomienda para la extracción de estos pigmentos el uso de ácidos débiles como el trifluoroacético, tartárico o cítrico.

2.3.2.1. Maceración dinámica

Para abreviar el tiempo de operación, la materia prima y el solvente deben mantenerse en movimiento constante. Este procedimiento es conocido como maceración dinámica. Tanto la maceración simple como la maceración dinámica pueden ser ejecutadas a una temperatura ambiente o a temperaturas más elevadas.

2.4. Indicadores ácido-base

Para obtener una indicación visual del punto final en una titulación por neutralización, se emplea un indicador ácido-base. Estos indicadores son ácidos (o bases) orgánicos cuya principal característica consiste en que su color difiere del correspondiente a la base (o ácido) conjugado. Una de las dos formas debe de exhibir color. Cuando una de las formas es incolora, al indicador se le describe como de un solo color, en contraste con los indicadores de dos colores. Cada indicador varía de color en un intervalo definido de pH, llamado intervalo de transición. Algunos indicadores tienen más de un intervalo. La posición de este intervalo en la escala de pH depende de la constante de acidez (o basicidad) del propio indicador. Con valores de pH inferiores y

superiores a los de su intervalo de transición, el indicador está presente predominantemente en forma ácida y en forma alcalina, respectivamente. Dentro del intervalo de transición, ambas formas están presentes en proporciones considerables.

Cuando menos una de las formas del indicador debe exhibir una coloración intensa, de forma tal que le imparta a la solución titulada una coloración claramente visible, aun a las concentraciones del indicador, generalmente muy bajas que se le emplea en la práctica (10^{-4} a 10^{-5} F o menos). El intervalo de transición debe ser pequeño, con lo cual se logra que la adición de una pequeña cantidad de titulante provoque un abrupto cambio de color. El indicador debe seleccionarse de tal manera que el pH del punto final que indique esté cercano, o preferiblemente idéntico, al punto de equivalencia.

2.4.1. Características que debe reunir un indicador

Para que una sustancia pueda considerarse como un buen indicador debe reunir las siguientes características:

- Color intenso. Como hay que "valorar" también el propio indicador interesa que la intensidad de las formas coloreadas sea alta, con el objetivo de que sea necesario utilizar una cantidad muy pequeña de indicador.
- El equilibrio de disociación entre las formas ácida y básica del indicador debe ser reversible.
- Las formas ácida y básica, responsables de los colores observados tienen que ser estables.

2.4.2. Potencial de hidrógeno (pH)

En disoluciones acuosas, las concentraciones de los iones H_3O^+ y OH^- están ligadas a través del producto iónico del agua, por lo que basta expresar solo una de ellas para que la otra quede automáticamente determinada. Normalmente, se suele utilizar la concentración de iones H_3O^+ . Corrientemente, la concentración de iones H_3O^+ en mol/litro suele variar:

$$[H_3O^+] = 10^{-14} \quad (\text{para una disolución 1 N de una base fuerte})$$

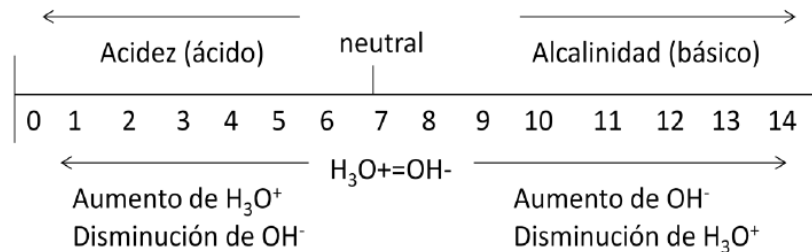
$$[H_3O^+] = 1 \quad (\text{para una disolución 1 N de un ácido fuerte})$$

Para poder expresar estas concentraciones mediante números sencillos, Sørensen, en 1909, introdujo el concepto de pH, que se define como el logaritmo decimal, cambiado de signo, de la concentración de iones H_3O^+ :

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

Conviene tener muy en cuenta que, debido al cambio de signo en el logaritmo, la escala de pH va en sentido contrario al de la concentración de iones H_3O^+ , es decir, que el pH de una disolución aumenta a medida que disminuye $[H_3O^+]$, o sea la acidez. Esto puede verse claramente en la figura siguiente:

Figura 12. **Escala de pH a 25 °C**



Fuente: Equilibrio ácido-base.

<https://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/32428/1/beltranhernandez.pdf>. Consulta: 24 de noviembre de 2014.

De la misma forma que el pH, se define también el pOH como:

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

Teniendo en cuenta la expresión del producto iónico del agua, se deduce inmediatamente que, a 25°:

$$pH + pOH = 14$$

2.4.3. Constante del indicador

La reacción de ionización de un indicador puede expresarse en la siguiente forma:



Esta forma generalizada posee la ventaja de que es aplicable a indicadores ácidos o básicos, independientemente de que sean especies sin carga, aniónicas o catiónicas. La constante de equilibrio, que en este caso se llama constante de indicador, según la ecuación de Henderson-Hasselbach es:

$$K_{Ind} = \frac{[forma\ básica][H^+]}{[forma\ ácida]}$$

Que en su forma logarítmica es:

$$pH = pK_{Ind} + \log \frac{[forma\ básica]}{[forma\ ácida]}$$

Esta fórmula y las intensidades de los colores del indicador, así como la diferenciación de colores del observador, permiten un tratamiento teórico que proporciona las bases de la comprensión del funcionamiento de los indicadores.

2.5. Valoración ácido-base

Una valoración ácido-base (también llamada volumetría ácido-base, titulación ácido-base o valoración de neutralización) es una técnica o método de análisis cuantitativo muy usada, que permite conocer la concentración desconocida de una disolución de una sustancia que pueda actuar como ácido neutralizada por medio de una base de concentración conocida, o bien sea una concentración de base desconocida neutralizada, por una solución de ácido conocido. Es un tipo de valoración basada en una reacción ácido-base o reacción de neutralización entre el analito (la sustancia cuya concentración queremos conocer) y la sustancia valorante.

El nombre volumetría hace referencia a la medida del volumen de las disoluciones empleadas, que permite calcular la concentración buscada. Aparte del cálculo de concentraciones, una valoración ácido-base permite conocer el grado de pureza de ciertas sustancias.

Las titulaciones pueden basarse en cualquier tipo de reacción química. Los principales requisitos de la reacción son que debe ser completa (esto es, tener constante de equilibrio grande) y rápida. Las titulaciones más comunes se basan en las reacciones ácido-base, de oxidorreducción, de formación de complejos o de precipitación. Los más usuales consisten en observar el cambio de color de un indicador, el cambio de absorbancia con un espectrofotómetro o los cambios de corriente o diferencia de potencial entre pares de electrodos sumergidos en solución analito. Un indicador es un compuesto que posee una propiedad física (generalmente el color) que cambia abruptamente en las proximidades del punto de equivalencia. El cambio se debe a la rápida desaparición del analito o aparición del titulante en el punto de equivalencia.

El punto de equivalencia es aquel en el que la cantidad de titulante agregado es igual a la cantidad exactamente requerida para que reaccione estequiométricamente con el analito. Encontrar el punto de equivalencia es el fin que se persigue en una titulación. En realidad, lo que se mide es el punto final. El punto final se caracteriza por un cambio abrupto en una propiedad física o química de la solución.

2.5.1. El material básico empleado

- Bureta.
- Mesa o soporte de fondo blanco - se emplea para apreciar el cambio de color de la disolución.

- Pipeta.
- Indicador de pH o indicador ácido-base (se emplean muchos diferentes, según la reacción).
- Matraz Erlenmeyer (matraz cónico).
- Disolución estándar (una disolución de concentración conocida).
- Disolución o muestra cuya concentración conocer.

2.5.2. Tipos de titulaciones

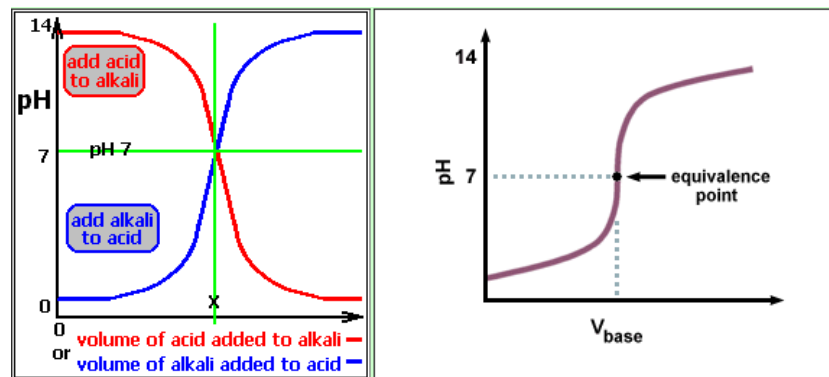
La reacción completa de un ácido con una base cuando se encuentran en disolución acuosa, se conoce como reacción de neutralización, y forma una sal, y también casi siempre, agua. Las valoraciones de ácidos y bases se basan en las reacciones de neutralización. En el caso de valorar un ácido, se estará realizando una acidimetría, y si lo que se está valorando es una base, se conocerá como alcalimetría. Al examinar una reacción para determinar si se puede utilizar para una titulación, es instructivo construir una curva de titulación. Para las titulaciones ácido-base, una curva de titulación consiste en graficar el pH (o el pOH) contra los mililitros de titulante. Estas curvas son muy útiles para seleccionar el indicador adecuado.

2.5.2.1. Ácido fuerte-base fuerte

En el caso de un ácido fuerte contra una base fuerte, tanto el titulante como el analito están por completo ionizados. En las valoraciones de ácido fuerte con base fuerte, el punto de equivalencia se obtiene cuando el pH es igual al valor 7. Para este tipo de valoraciones son válidos la gran mayoría de indicadores, ya que el salto que produce el pH es bastante grande.

Un ejemplo de curva de titulación de ácido monoprótico fuerte-base fuerte es el de la titulación de HCl con NaOH, llamado alcalimetría o bien de NaOH con HCl llamada acidimetría.

Figura 13. **Curva de valoración ácido monoprótico fuerte-base fuerte**

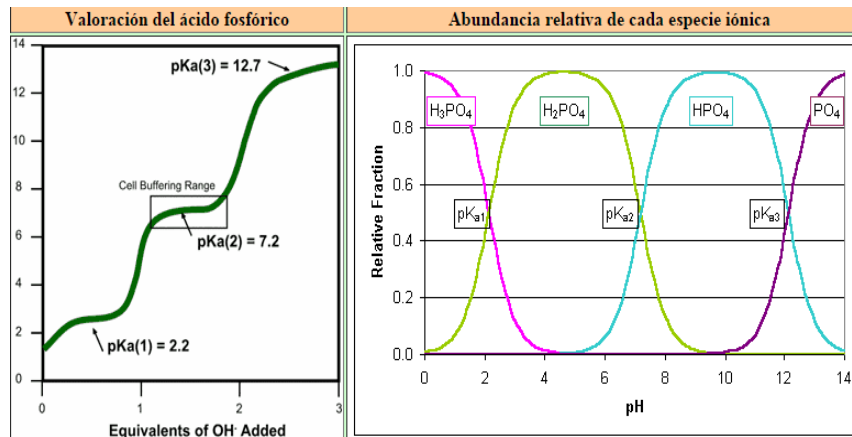


Fuente: *Neutralización de ácidos y bases.*

<http://www.ehu.es/biomoleculas/ph/neutra.htm#n2>. Consulta: 14 de enero de 2015.

Los ácidos polipróticos presentan tantos puntos de equivalencia como protones capaces de disociarse. En el caso del ácido fosfórico, que es triprótico, la valoración completa precisa la adición de 3 equivalentes OH^- por cada mol de ácido. Hay tres equilibrios de disociación, cada uno con su pK_a característico.

Figura 14. Curva de valoración ácido fosfórico



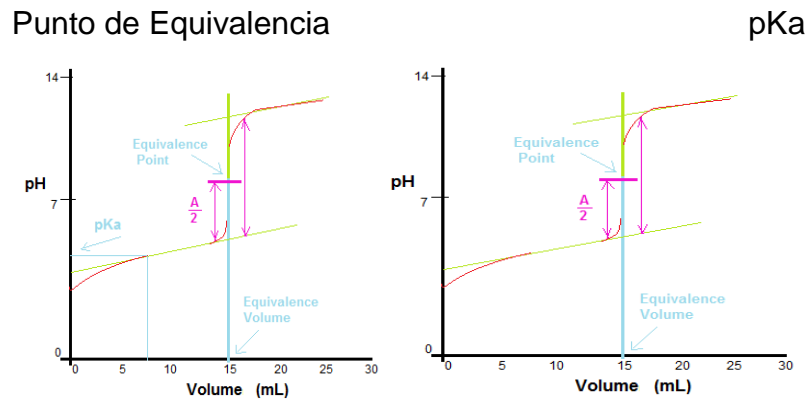
Fuente: *Neutralización de ácidos y bases*. <http://www.ehu.es/biomoleculas/ph/neutra.htm#n2>.
Consulta 14 de enero de 2015.

2.5.2.2. Ácido débil-base fuerte

Si se tiene un ácido débil y al añadir una base fuerte el pH se va aproximando a la neutralidad sin cambios bruscos, pero una vez neutralizado el ácido basta añadir unas gotas de base en exceso para obtener un incremento brusco en el pH como si sólo hubiera base libre. En este caso, en el punto de equivalencia (cuando se ha añadido el mismo número de equivalentes de base que de ácido) el pH mayor que 7. En el punto en que se han neutralizado la mitad de los equivalentes de ácido, $[AH] = [A^-]$ y el $pH = pKa$.

Un ejemplo de curva de titulación de ácido monoprótico de ácido débil - base fuerte es la del ácido acético 0,1N, el pH inicial es 2,88 y al añadir una base fuerte (0,1N NaOH).

Figura 15. **Curva de valoración ácido débil-base fuerte**



Fuente: *Neutralización de ácidos y bases*. <http://www.ehu.es/biomoleculas/ph/neutra.htm#n2>.

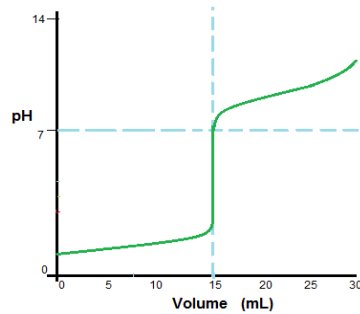
Consulta: 14 de enero de 2015.

2.5.2.3. **Ácido fuerte-base débil**

Cuando un ácido fuerte se neutraliza con una base débil, el pH se mantiene muy bajo mientras aún existe ácido libre y después de alcanzar la neutralidad, el ligero exceso de base débil eleva paulatinamente el pH, sin provocar cambios bruscos. En este caso, en el punto de equivalencia (igual número de equivalentes de ácido y de base) el pH es menor que 7.

Un ejemplo para este tipo de titulación es cuando un ácido fuerte como el HCl se neutraliza con una base débil (NH₃).

Figura 16. **Curva de valoración ácido fuerte-base débil**



Fuente: *Neutralización de ácidos y bases.*

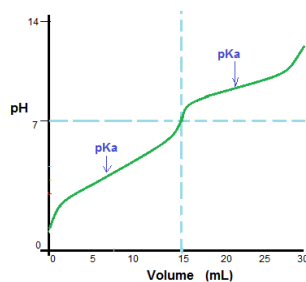
<http://www.ehu.es/biomoleculas/ph/neutra.htm#n2>. Consulta: 14 de enero de 2015.

2.5.2.4. **Ácido débil-base débil**

Al valorar un ácido débil con una base débil, no se producen variaciones bruscas en el pH. Habrá dos regiones con capacidad amortiguadora definidas por los pK del ácido débil y de la base débil, respectivamente.

Para este tipo de titulaciones un ejemplo es al valorar un ácido débil (acético) con una base débil (NH₃)

Figura 17. **Curva de valoración ácido acético con NH₃**



Fuente: *Neutralización de ácidos y bases.*

<http://www.ehu.es/biomoleculas/ph/neutra.htm#n2>. Consulta 14 de enero de 2015.

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. Variables

Se detallan las variables necesarias para evaluar el extracto vegetal para utilizarse como indicador ácido-base a partir del contenido de pigmentos antocianicos, presentes en la cáscara de rábano rojo (*Raphanus sativus* var) a escala laboratorio, empleando dos diferentes tiempo de extracción sólido-líquido (3 y 6 horas) y dos diferentes pH iniciales del disolvente extractor (3 y 4). Para cada combinación se realiza tres repeticiones, resultando 12 tratamientos.

3.1.1. Variables de control

Servirán como parámetro durante la experimentación.

Tabla III. **Determinación de variables de control a escala laboratorio**

Variable	Dimensional		Factor potencial de diseño		Factores perturbadores
			Constante	Variable	Controlable
Temperatura	Celsius	°C	X		X
Presión	Pulgadas de mercurio	inHg	X		X
Tiempo de maceración	Horas	h		X	X
pH soluciones	Potencial de hidrógeno	pH		X	X

Fuente: elaboración propia.

3.1.2. Variables dependientes

Propiedad, cualidad o característica de una realidad, evento o fenómeno, que tiene la capacidad para influir, incidir o afectar a otras variables.

Tabla IV. **Determinación de las variables dependientes a escala laboratorio**

Variable	Dimensional		Factor potencial de diseño		Factores perturbadores	
			Constantes	VARIABLES	Controlable	No Controlable
Absorbancia antocianinas	Absorbancia	A		X	X	
	Miligramos	mg				
Rendimiento del extracto	Porcentaje	%		X	X	
pH	Potencial de hidrógeno	pH		X	X	
pK_a indicador	pKa indicador	pK_{in_d}		X	X	
Humedad base seca pasta	Porcentaje humedad	%H _{BS}	X		X	
Identificación antocianinas	Positivo	+	X		X	

Fuente: elaboración propia en Microsoft Word.

3.1.3. Variables independientes

Es el objeto de estudio, sobre la cual se centra la investigación en general. También la variable independiente es manipulada por el investigador, porque el investigador puede variar los factores para determinar el comportamiento de la variable.

Tabla V. **Determinación de variables independientes a escala laboratorio**

Variable	Dimensional		Factor Potencial de diseño		Factores Perturbadores	
			Constante	Variable	Controlable	No Controlable
Cantidad de materia prima	Gramos	g	X		X	
Tamaño de partícula	Micrones	mm	X		X	
Constante dieléctrica IPA	Constante	E	X		X	
Tiempo de maceración	Horas	h		X	X	
Relación solvente extractor y materia prima	A:B	A:B	X		X	
Humedad base seca materia prima	Humedad Base seca	%H _{BS}	X		X	
Área de transferencia de masa	Metros cuadrados	m ²	X		X	
Volumen de indicador para titular	Mililitros	mL		X	X	

Fuente: elaboración propia.

3.1.4. Variables de medición

Estos parámetros serán los controlados durante la experimentación, con el fin de no alterar los resultados finales.

Tabla VI. **Determinación de las variables de medición a escala laboratorio**

Variable	Dimensional		Instrumento de medición
Cantidad de materia prima	Gramos	g	Balanza
Volumen de soluciones	Molar	mol/L	Probetas y balón aforado
Volumen de titulante	mililitros	mL	Bureta y microbureta
pH de soluciones	Potencial de hidrógeno	pH	potenciómetro
Tiempo de maceración y deshidratado	Horas	h	Cronometro
Porcentaje de humedad	Porcentaje	%	Balanza de humedad
Espectros de absorbancia	absorbancia	A	Espectrofotómetro
cantidad pasta deshidratada	gramos	g	Horno al vacio
Temperatura	Centigrados	°C	Termómetro
Tamizaje fitoquímico	positivo	+	Regla, cromatopla de sílica gel y lámpara UV

Fuente: elaboración propia.

3.2. Delimitación de campo de estudio

- Área: análisis cualitativo y cuantitativo.
- Industria: este estudio va dirigido a los centros educativos y universidades que en los laboratorios químicos utilizan indicadores ácido-base para el estudio de titulaciones, esto se hace con el fin de economizar y sustituir a los indicadores ácido-base sintéticos, para tener materiales alternativos que puedan sustituir a materiales sintéticos.
- Línea de investigación: indicador ácido-base natural.
- Proceso: extracción de pigmentos antociánicos de la cáscara del rábano (*Raphanus sativus* var) usado como indicador ácido-base natural.
- Ubicación: la extracción del pigmento de la cáscara de rábano, así como su análisis y el uso del indicador ácido-base se realizó en la Universidad de San Carlos de Guatemala, Laboratorio de Química ubicado en

Utrecht-EFPEM. El proceso de rotaevaporar y el estudio de identificación de antocianinas por cromatografía en capa fina en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia LIPRONAT. El proceso de concentración para llevar el producto final a pasta deshidratada se realizó en Centro de Investigaciones de Ingeniería, Laboratorio de Extracciones Vegetales (LIEXVE). El proceso de barridos por espectrofotometría, cuantificación de antocianinas y titulaciones con bureta y microbureta se realizará en el Laboratorio de Análisis fisicoquímicos (LAFIQ) y Laboratorio de Docencia de Química LQ1 ambos de la Facultad de Ingeniería de la Escuela de Química, edificio T5.

3.3. Recursos humanos disponibles

- Investigador: Lourdes Carolina Ozaeta Siliezar
- Asesora: Inga. Qca. Adela María Marroquín González

3.4. Recursos materiales disponibles

A continuación se plantearan los recursos materiales disponibles.

3.4.1. Materia orgánica

- Cáscara de rábano rojo (*Raphanus sativus var*)
- Solución de alcohol isopropílico 83 %, constante dieléctrica 30
- Ácido cítrico en polvo, grado reactivo
- Metanol, grado reactivo
- Estándar quercetina
- Estándar rutina
- Estándar ácido clorogénico

- Acetato de etilo, grado reactivo
- Ácido fórmico, grado reactivo
- Ácido glacial, grado reactivo
- Solución metanólica al 1 % de definilboriloxietilamina (NP),
- Solución al 5 % de polietilenglicol 4 000 (PEG)

3.4.2. Materia inorgánica

- Solución de ácido corhídrico 0,1 M, 1 M, 37 %
- Solución de hidróxido de sodio 1 M y 0.1 M
- Agua destilada
- Agua de grifo

3.4.3. Cristalería y equipo

En el laboratorio se emplea equipo especial para el desarrollo de las actividades práctica.

3.4.3.1. Equipo

- Balanza marca: Adventur serie: G1231202040133, voltaje 8-14.5V, frecuencia. 50/60 Hz máxima capacidad 150 gramos, lectura mínima 0,001 gramos, hecha en EE.UU.
- Plancha de calentamiento con agitación, marca Corning, modelo PC-620, 120V/100 V, frecuencia 60 Hz, potencia 1113 w, rango 0 – 4800C,0 – 1 100 rpm.
- Bomba de vacío, marca –gast, modelo 0523-V4F-6588DX, vacío hasta 30 in Hg, manómetros analíticos, modelo 100-115 v, frecuencia 50 Hz, potencia ¼ Hp, revoluciones 1 725/1 425 rpm, hecha en Michigan USA.

- Campana de extracción de 110 V y 900 watts, marca Serproma de motor con capacidad de $\frac{3}{4}$ Hp.
- Molino Rotter tipo prensa, acero inoxidable.
- Tamiz #10, 2 mm Diameter ASTM Round Brass-Stainless Test Sieves, bronce-acero.
- Potenciómetro H1221 HI223 (pH/mV/ 0C) Bench Meters *with calibration check*. HANNA *instruments* Manufacturer since 1978. Hecho en Portugal.
- Cronómetro digital. Con control manual utiliza baterías alcalinas con marcador de segundos, minutos y hora, marca CASIO.
- Rotaevaporador, ubicado en LIPRONAT marca Buchi. 1 stk Fordampningskolbe 1000 med slip NS 29/32 og mottakerkolbe 1000 ml med kuleslip S 35, 230 V, 50 Hz.
- Horno al vacío VWR, marca ASHCROFT, vacío hasta 30 in Hg. Código VD 23, 1, 466-3217.
- Espectrofotómetro marca Spectroquant® Pharo 300 M. Con puerto RS232 y puertos USB. Paso de luz de 10 a 50 mm.
- Lámpara ultravioleta UV-VIS, 300-500 nm. TLC. Marca Numak, modelo GL-9406.

3.4.3.2. Cristalería

- Balones de aforado 1 00 mL marca Pirex.
- Balones aforado de 1000 mL marca Pirex.
- Beackers de 50, 100 mL y 150 mL marca Cornin-Pirex.
- Condensador de bolas boquilla 24/40, marca Cornin-Pirex.
- Bureta pirex 50 mL, capacidad de 1mL.
- Microbureta, volumen 30 mL, marca pirex capacidad 0,1 ML.
- Earlenmeyer, capacidad de 50 mL, marca Pirex.
- Pipetas de 5 y 10 mL marca Pirex.

- Cajas petri marca Pirex.
- Tubos de ensayo de vidrio.
- Microtubos eppendorf de polipropileno de 1,5 mL.
- Perillas de succión.
- Embudos de vidrio.
- Varillas de agitación.
- Kitasato de 500 mL.
- Termómetro de mercurio 0 – 100 °C.
- Tubos capilares de 10 microlitos para sembrados, marca THL.
- Celda o cubeta de cuarzo para espectrofotómetro marca Spectroquant® Pharo 300 M.
- Cámara cromatográfica de vidrio borosilicato QCH-1.
- Tapa esmerilada de cámara cromatográfica de vidrio borosilicato QCH-1.

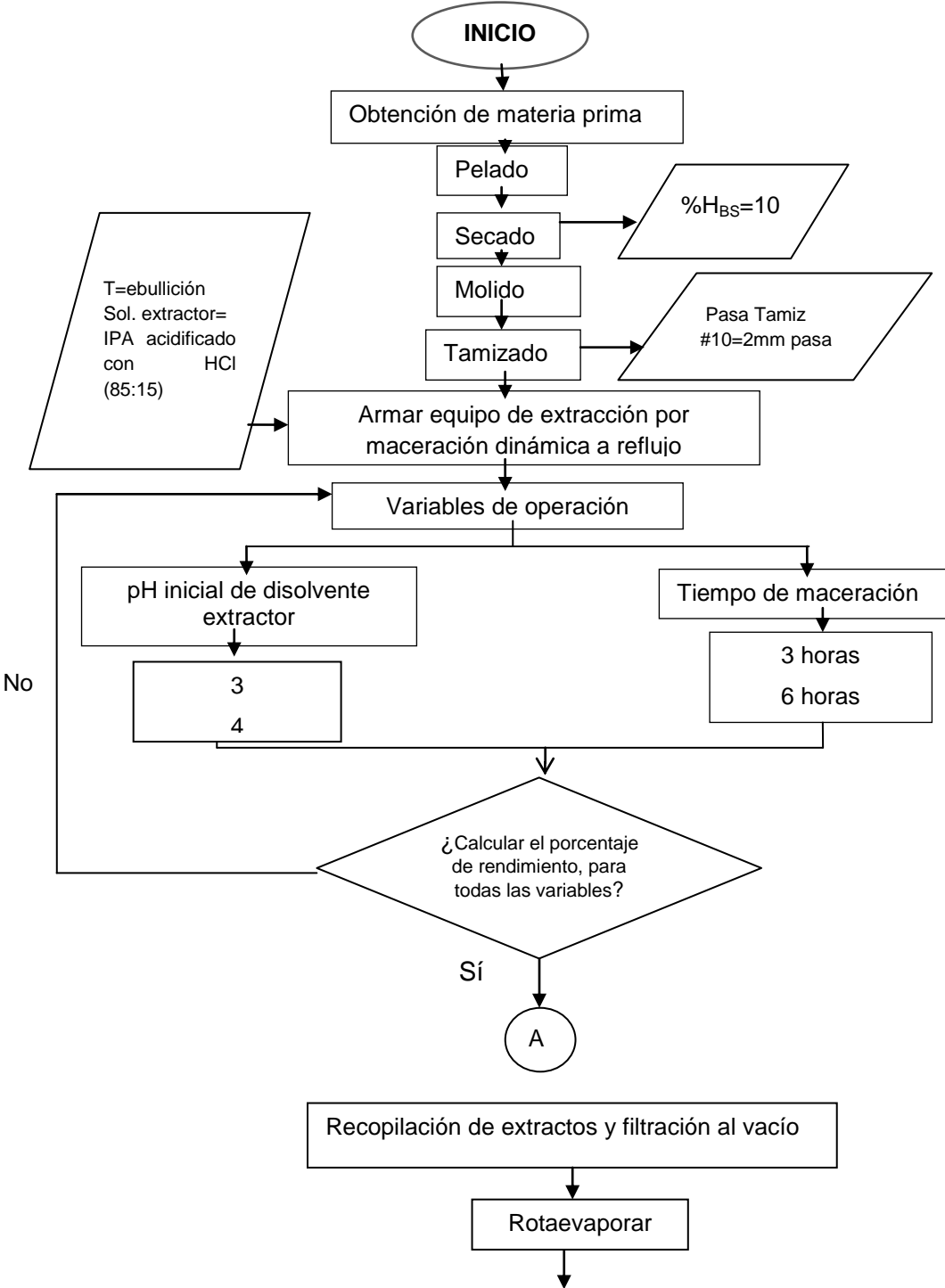
3.5. Técnica cualitativa y cuantitativa

Las técnicas cualitativas y cuantitativas consisten en la descripción detallada de situaciones, eventos, personas, comportamientos observables

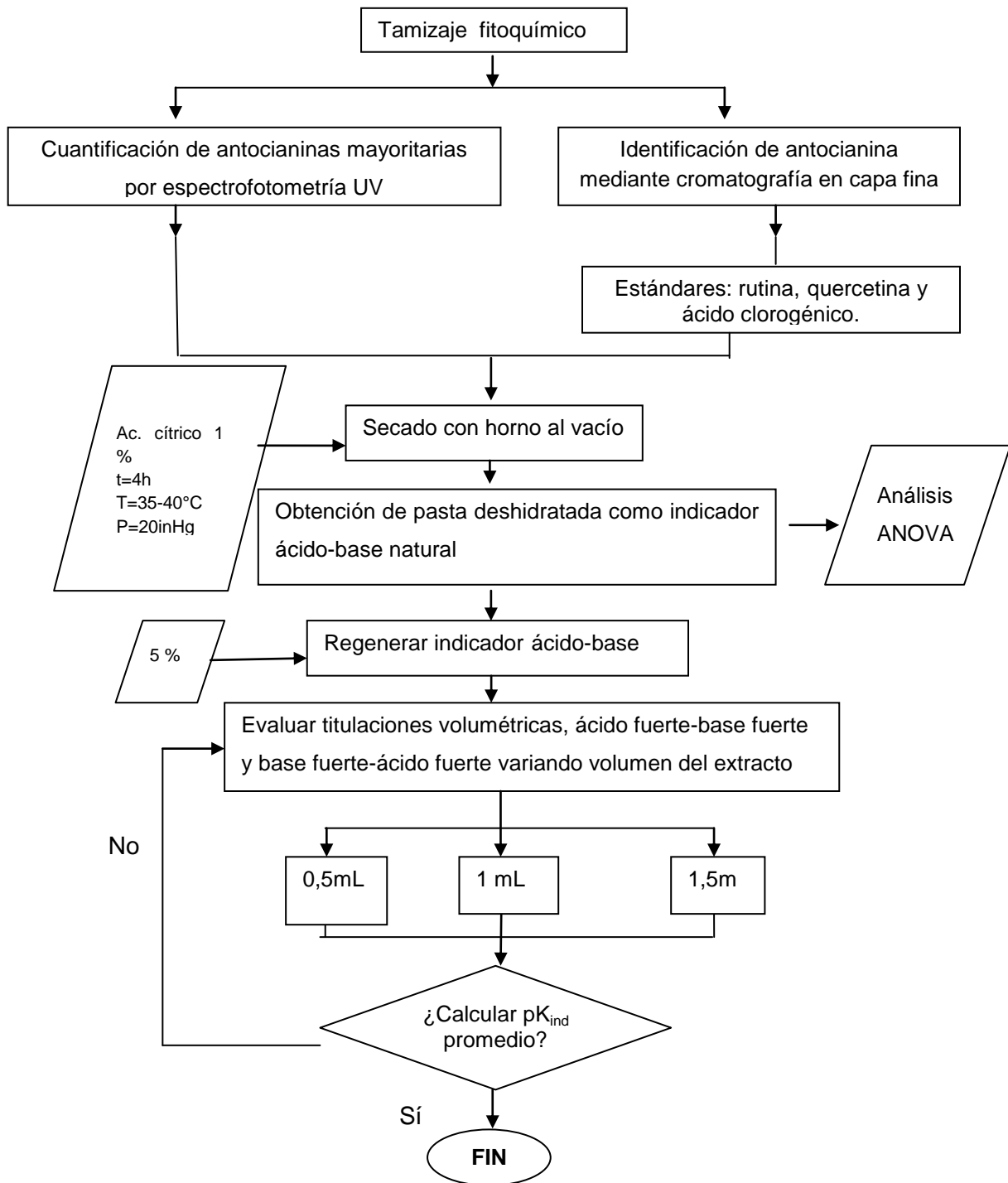
3.5.1. Diseño final

El diseño final del producto consiste en elaborar los últimos arreglos del producto.

Figura 18. Diseño final



Continuación de la figura 18.



Fuente: elaboración propia.

3.6. Recolección y ordenamiento de la información

La recolección de la cáscara de rábano rojo (*Raphanus Sativus* var) se obtuvo de los frutos de rábanos. Los cuales se cosecharon en el municipio de Santo Tomás Milpas Altas del departamento de Sacatepéquez en febrero mayo del 2015. El fruto utilizado en su mayoría fue de rechazo de diversas cosechas de pequeños productores los cuales muchas veces lo retiran o lo venden a muy bajo costo en el mercado de la localidad y no pasan el control de calidad de mercados más exigentes, debido a su tamaño, forma o punto de madures. Los frutos sin cáscara también se aprovecharon para abono del mismo lugar de cosecha.

3.6.1. Determinación de corridas a realizar

Para determinar la cantidad de tratamientos a realizar, se asumió probabilidad de éxito del 90 %, probabilidad de fracaso de un 10 %, con un nivel de significancia del 4 % y un error estimado del 35 %, por lo que:

$$N = \frac{Z^2PQ}{E^2}$$

Donde:

Z = confiabilidad

P = probabilidad de éxito

Q = probabilidad de fracaso (1 -P)

E = error estimado

N = número de tratamientos

De la ecuación anterior se obtuvo la cantidad de corridas a utilizar:

$$N = \frac{(1,96)^2 * 0,90 * 0,10}{(0,35)^2}$$

$$N = 2,8224 \approx 3$$

3.6.2. Diseño de tratamientos

Para el primer tratamiento se varió los tiempos de maceración a su temperatura de ebullición, Estos tiempos de extracción y temperatura de maceración se determinaron según pruebas previas para verificar la funcionalidad de dicho método. Los tiempos elegidos finalmente son: 3 y 6 h.

El segundo tratamiento fue el de variación de pH inicial del extracto, eligiendo pH 3 y pH 4. Estos pH fueron elegidos por pruebas preliminares de virajes de pH experimentales, según diferentes variaciones de constantes dieléctricas del IPA.

Finalmente se realizó un último tratamiento una vez obtenido el extracto con metabolitos secundarios del tipo antocianina, utilizados como indicadores ácido-base natural. Este consistió en realizar variaciones de los volúmenes del extracto aplicados en las titulaciones ácido-base eligiendo 0,5 mL (10 gotas de indicador), 1 mL (20 gotas del indicador) y 1,5 mL (30 gotas del indicador).

Tabla VII. **Tratamientos a realizar (2 X 2 X 3)**

Rendimientos de extracto	Tiempo de maceración (h)	
	3	6
pH inicial del extracto		
3	Corrida 1	Corrida 1
	Corrida 2	Corrida 2
	Corrida 3	Corrida 3
4	Corrida 1	Corrida 1
	Corrida 2	Corrida 2
	Corrida 3	Corrida 3

Fuente: elaboración propia.

Tabla VIII. **Tratamientos a realizar para cada extracto (3 X 2 X 3)**

pH virajes	Volumen agregado del indicador en titulación ácido fuerte-base fuerte (mL)			Volumen agregado del indicador en titulación base fuerte-ácido fuerte (mL)		
	0,5	1	1,5	0,5	1	1,5
pK _{ind}	Corrida 1	Corrida 1	Corrida 1	Corrida 1	Corrida 1	Corrida 1
	Corrida 2	Corrida 2	Corrida 2	Corrida 2	Corrida 2	Corrida 2
	Corrida 3	Corrida 3	Corrida 3	Corrida 3	Corrida 3	Corrida 3

Fuente: elaboración propia.

3.7. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información

A continuación se explica el proceso de tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información.

3.7.1. Determinación del porcentaje de rendimiento del extracto en pasta deshidratada utilizada como indicador ácido-base natural, de la cáscara de rábano rojo

El procedimiento que se utilizó fue el siguiente:

- Se lavó y peló los rábanos recolectados.
- Se secaron las cáscaras de rábano rojo por medio de un secador hasta llevarlo a un porcentaje promedio de humedad en base seca de 10 %.
- Se molió la cáscara de rábano rojo por medio de un molino Rotter tipo prensa y se tamizó con tamiz núm. 10 (2 mm) utilizando lo que pasa del mismo.
- Se maceró la cáscara de rábano rojo con IPA 83 %, constante dieléctrica 30, acidificado con HCl (85:15), la relación materia prima y solvente extractor fue 1,5.
- Se realizaron todos las variaciones de pH y tiempos de maceración con respecto a cada tratamiento.
- Se filtró con manta y posteriormente al vacío cada tratamiento.
- Se rotavaporó cada tratamiento hasta llevar a peso constante, temperatura trabajada 40 °C y presión 100 mbar.
- Se llevó a pasta deshidratada mediante el horno al vacío cada tratamiento, temperatura 40 °C durante las dos primera horas y 35 °C durante las dos siguiente horas.

- Se agregó 0,5 mL de ácido cítrico al 1 % a la pasta deshidratada, se recolectó y midió el porcentaje de humedad base seca.

La ecuación para determinar el porcentaje de rendimiento de la pasta deshidratada del indicador ácido-base natural fue:

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{W_f}{W_o} * 100$$

Donde:

Wf= masa final de la pasta deshidratada (g)

Wo= masa inicial de materia prima (g)

% rendimiento= porcentaje de rendimiento de la pasta deshidratada (%)

3.7.2. Determinación el total de antocianinas presentes en las diferentes muestras

El procedimiento que se utilizó fue el siguiente:

- Se preparó una alícuota de aproximadamente 40 mL de la solución del extracto de rábano rojo.
- Se filtró la alícuota utilizando papel Whatman núm.1 en un embudo Büchner.
- Se limpió cuidadosamente la celda del espectrofotómetro y se realizó la lectura del blanco (solvente extractor).
- Se limpió nuevamente la celda del espectrofotómetro y se realizó la lectura de la alícuota preparada inicialmente del extracto de rábano.
- Se realizaron barridos de absorbancia, para determinar la longitud de máxima absorbancia en la región visible del espectro electromagnético.

- Se identifico, los tipos de antocianinas según la tabla del anexo A, que presenta los coeficientes de extinción molar de algunas antocianinas y antocianidinas, según la región del espectro visible leída en el espectrofotómetro.

Para determinar el total de antocianinas presentes en las diferentes muestras se utiliza la siguiente ecuación:

$$mg \text{ atocianina} / 75g = \frac{A * E * L}{PM}$$

Donde:

A= valor de absorbancia en la longitud de onda según tipo de antocianina.

E= coeficiente de extinción molar de la antocianina presente en el fruto. (Se encuentran en la sección de anexos). [L/cm.mg].

L= distancia del camino óptico, longitud de la celda [1 cm].

PM= peso molecular de la antocianina presente en el fruto [g/L].

3.7.3. Medición del potencial de hidrógeno para cualquier muestra

El procedimiento que se utilizó fue el siguiente:

- Se calibró el electrodo con soluciones buffer de pH 4, 7 y 10
- Se lavó el electrodo con agua destilada
- Se colocó el electrodo en la muestra
- Se realizó de la lectura de pH

3.7.4. Análisis de la cromatografía de capa delgada (TLC)

El procedimiento que se utilizó fue el siguiente:

- Se pesó 1 g del extracto líquido anteriormente concentrado por rotavaporación.
- Se preparó 5 mL de metanol, grado reactivo en un beacker y agregó el extracto preparada en el inciso anterior.
- Se calentó la solución del *beacker* en baño María a 60 °C, durante 5 minutos.
- Se dejó enfriar la solución.
- Se preparó la fase móvil, agregando en la cámara comatográfica 34 mL de acetato de etilo, 4 mL de ácido fórmico, 4 mL de ácido glacial y 9 mL de agua.
- Se cubrió la cámara cromatográfica con su tapa y dejó reposar para su saturación en la campana de extracción durante 20 minutos.
- Se aplicará 5 microlitros del estándar quercetina, rutina y ácido clorogénico a la placa de sílica gel 60 F₂₅₄ mediante sembrados con tubos capilares.
- Se aplicará 5 microlitros de la muestra a analizar, preparada en el tercer inciso la placa de sílica gel 60 F₂₅₄ mediante sembrados con tubos capilares.
- Se introdujo la placa de sílica gel 60 F₂₅₄ a la cámara cromatográfica, preparada anteriormente y se dejó reposar hasta que la fase móvil recorrió la distancia debida de la placa de sílica gel.
- Se asperjó la placa de sílica gel 60 F₂₅₄ seca con solución metanólica al 1 % de definilboriloxietilamina (NP), y posteriormente con solución al 5 % de polietilenglicol 4 000 (PEG).

- Se identificó antocianinas por relación de las manchas de colores tanto de la muestra como de los estándares por luz ultravioleta, a una longitud de onda de 300 nm y finalmente por relación de distancia.

Para identificar la presencia de antocianinas en las muestras analizadas y la relación de distancia con tres estándares utilizados se utilizaron las siguientes ecuaciones:

$$R_f = \frac{d_x \text{ mancha}}{d_x \text{ solvente}}$$

$$R_x = \frac{d_x \text{ mancha}}{d_x \text{ estándar}}$$

Dónde:

R_f = relación distancia recorrida por mancha y solvente

R_x = relación distancia recorrida por mancha y estándar

d_x mancha = distancia recorrida por la mancha en la placa de sílica gel 60 F₂₅₄
(m)

d_x solvente = distancia recorrida por el solvente en la placa de sílica gel 60 F₂₅₄
(m)

d_x estándar = distancia recorrida por el estándar (ácido clorogénico, rutina y quercetina) en la placa de sílica gel 60 F₂₅₄ (m)

3.7.5. Medición de la constante de equilibrio experimental

El procedimiento que se utilizó para el análisis de titulación ácido fuerte-base fuerte, fue el siguiente:

- Se regeneró la pasta deshidratada del extracto para utilizarlo como indicador ácido-base natural al 5 % utilizando el mismo solvente extractor (IPA 83 %, acidificado con HCl 0,1 M, relación 85:15).
- Se preparó 100 mL solución de HCl y NaOH 0,1 M.
- Se tomó una alícuota de 30 mL de HCl, solución analita y se agregó a un earlenmeyer.
- Se agregó el indicador ácido-base natural (0,5 mL, 1 mL o 1,5 mL).
- Se agregó a la bureta y microbureta la solución titulante de NaOH 0,1 M.
- Se preparó la superficie de fondo blanco para iniciar la titulación y se midió el pH inicial de la solución analita.
- Se tituló con bureta y microbureta para los valores de pH cercanos al punto de equivalencia.
- Se determinó el punto de equivalencia mediante viraje de color.
- Se elaboró curvas de titulación pH en función de volumen del titulante.
- Se elaboró las curvas de valoración.
- Se utilizó el método de la primera derivada para detección del pK_{ind} .
- Se repitió el procedimiento anterior para titulaciones base fuerte-ácido fuerte, utilizando como solución analita base fuerte y solución titulante ácido fuerte.

Tabla IX. **Datos experimentales para el cálculo del porcentaje de rendimiento del indicador ácido-base natural**

pH inicial del extracto	Tiempo (h)	% H _{BS}	Peso inicial muestra seca	Tara de caja petri	Peso inicial muestra y caja petri	Peso final de muestra y caja petri	% Rendimiento
3	3						

Continuación de la tabla IX.

	6		Promedio	Promedio	Promedio	Promedio	Promedio
		Promedio	Promedio	Promedio	Promedio	Promedio	
4	3						
		Promedio	Promedio	Promedio	Promedio	Promedio	
	6						
		Promedio	Promedio	Promedio	Promedio	Promedio	

Fuente: elaboración propia.

Tabla X. **Total de antocianinas presentes en las muestras y sus respectivos máximos de absorción en la región 200-700 nm**

pH inicial del extracto	Tiempo (h)	Núm. Corrida	Longitud de onda (nm)	Lectura de absorbancia	mg/75 g de antocianina	
3	3	1	1	1	1	
			2	2	2	
			n...	n...	n...	
		2				
4	6	1				
		2				
3						

Fuente: elaboración propia.

Tabla XI. **Análisis cromatográfico en capa fina para la detección de estándares de metabolitos secundarios del tipo antocianina**

Variable	corrida	Punto/color	Rf estándar	Rx estándar
pHo3 3h	1			
	2			
	3			
pHo4 3h	1			
	2			
	3			
pHo3 6h	1			
	2			
	3			
pHo4 6h	1			
	2			
	3			

Fuente: elaboración propia.

Tabla XII. **Datos de titulación base fuerte-ácido fuerte y determinación de pK_{ind} utilizando 0,5 mL del indicador (10 gotas)**

Tiempo (h)	pH 3 inicial del extracto						pH 4 inicial del extracto					
	Volumen agregado titulante (HCl 0,1 M)			pH del analito (NaOH 0,1 M)			Volumen agregado titulante (HCl 0,1 M)			pH del analito (NaOH 0,1 M)		
	Corridas			corridas			corridas			corridas		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
3h	1											
	2											
	n...											
6h	1											
	2											
	3											
	n...											

Fuente: elaboración propia.

Tabla XIII. **Datos de titulación ácido fuerte-base fuerte y determinación de pK_{ind} utilizando 0,5 mL del indicador (10 gotas)**

		pH 3 inicial del extracto						pH 4 inicial del extracto					
Tiempo (h)	Volumen agregado titulante (NaOH 0,1 M)			pH del analito (HCl 0,1 M)			Volumen agregado titulante (NaOH 0,1 M)			pH del analito (HCl 0,1 M)			
	Corridas			corridas			corridas			corridas			
3h	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
	1												
	2												
	n...												
6h	1												
	2												
	3												
	n...												

Fuente: elaboración propia.

Nota: las tablas anteriores serán utilizada también al variar el volumen del indicador agregado durante la titulación a 1 mL (20 gotas), 1,5 mL (30 gotas).

3.8. Análisis estadístico

En el análisis estadístico se hará un cálculo de promedio para obtener datos más exactos con las corridas inicialmente planteadas. El promedio se calculó de la siguiente manera:

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n}$$

Donde:

\bar{x} = valor promedio

x_i = valor i

n = número de datos

A partir del promedio, también se encuentra la desviación estándar (S) que permite observar la dispersión entre valores para una misma medición respecto al promedio. El cálculo de la desviación estándar se representa por:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_i^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Donde:

\bar{x} = valor promedio

x_i = valor i

n = número de datos

S = desviación estándar

Adicionalmente se realizó el análisis estadístico de varianza (Anova), con la finalidad de comprobar cuál hipótesis estadística es la que mejor se ajusta a la parte experimental del estudio, ya sea esta la hipótesis nula o la hipótesis alternativa planteada. La idea de este método es expresar una medida de la variación total de un conjunto de datos como una suma de términos, que se pueden atribuir a fuentes o causas específicas de variación; en su forma más simple, se aplica a experimentos que se planifican como diseños completamente aleatorios.

Tabla XIV. Organización de datos Anova

Tratamientos \ Repeticiones	1	2	3	
1	Y_{11}	Y_{21}	Y_{31}	
2	Y_{12}	Y_{22}	Y_{32}	
3	Y_{13}	Y_{23}	Y_{33}	
Total	Y_{1*}	Y_{2*}	Y_{3*}	T_{**}

Fuente: WALPOLE, Ronald E.; et al. *Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias*.
p. 720.

Las fórmulas empleadas son las siguientes:

$$SST = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^n Y_{ij}^2 - \frac{T_{**}^2}{nK}$$

$$SSA = \frac{\sum_{i=1}^k T_i^2}{n} - \frac{T_{**}^2}{nK}$$

$$SSE = SST - SSA$$

$$S_1^2 = \frac{SSA}{k - 1}$$

$$S^2 = \frac{SSE}{k(n - 1)}$$

$$f = \frac{S_1^2}{S^2}$$

Donde:

SSA = suma de cuadrados de tratamientos

SSE = suma de cuadrados del error

SST = suma de cuadrados totales

k = número de tratamientos

i = subíndice para tratamientos

T_{**} = total general

T_{i*} = total de tratamiento i

S^2 = cuadrado medio del Error

S_1^2 = cuadrado medio del tratamiento

f = f de pruebas para tratamientos

Y_{ij}^2 = todos los datos de todas las muestras

3.8.1. Plan de análisis de los resultados

Los resultados obtenidos durante la realización de la experimentación se someterán a un análisis con programas para analizar y comparar cuantitativamente los datos obtenidos.

3.8.2. Métodos y modelos de los datos según tipo de variables

- Método de espectrofotometría UV: espectros de absorbancia, cálculo de la cantidad de antocianinas en la muestra y detección de antocianina mayoritaria.
- Cromatografía en capa fina: identificación de antocianinas.
- Viraje de pH y pK_{indicador} del indicador ácido-base: mediante curvas de titulación y el método de primera derivada, determinación de pK_{ind}, al utilizar el extracto como indicador ácido-base natural.

3.8.3. Programas a utilizar para análisis de datos

- Microsoft Excel 2010: hoja de cálculo electrónica para facilitar operaciones matemáticas.
- Microsoft Visio 2010: software utilizado para facilitar la elaboración de diagramas.

4. RESULTADOS

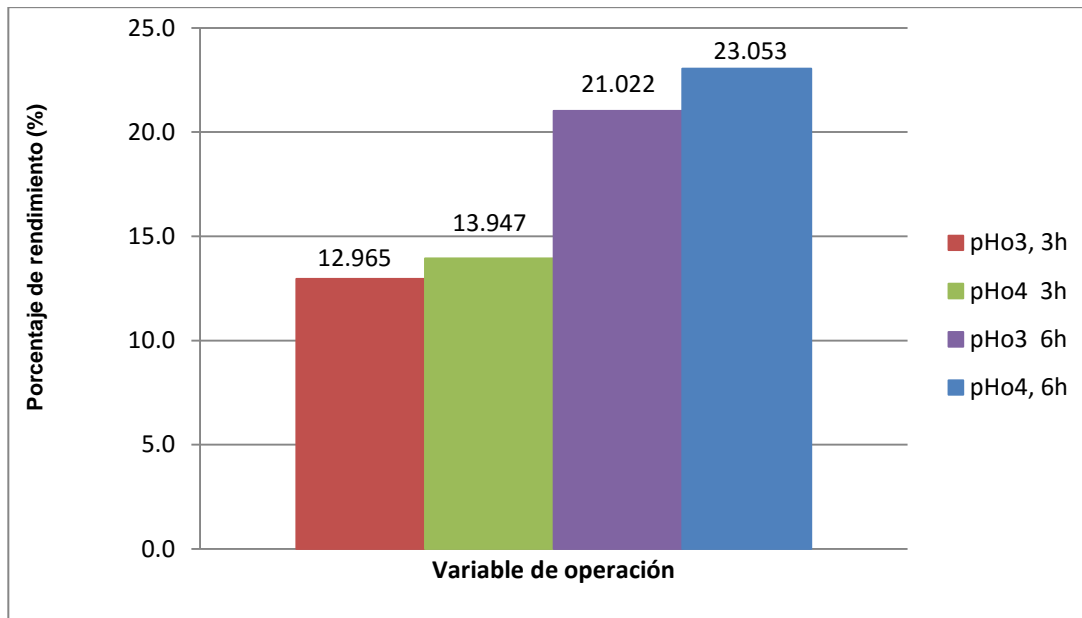
A continuación se presentan los datos cuantitativos y cualitativos obtenidos después de realizar la experimentación:

Tabla XV. **Porcentaje de rendimiento de los metabolitos secundarios utilizados como indicador ácido-base natural en base de las variables de operación**

Variable	Corrida	Pasta total (g)	Rendimiento (%)	Promedio (%)	Desviación estándar
pHo3 3h	1	9,76	13,013	12,965	±0,049
	2	9,592	12,789		
	3	9,819	13,092		
pHo4 3h	1	10,421	13,895	13,947	±0,007
	2	10,45	13,933		
	3	10,51	14,013		
pHo3 6h	1	15,8	21,067	21,022	±0,009
	2	15,71	20,947		
	3	15,79	21,053		
pHo4 6	1	17,34	23,120	23,053	±0,054
	2	17,38	23,173		
	3	17,15	22,867		

Fuente: elaboración propia, con datos de la tabla VI.

Figura 19. **Porcentaje promedio del rendimiento de los metabolitos secundarios utilizados como indicador ácido-base natural en base de las variables de operación**



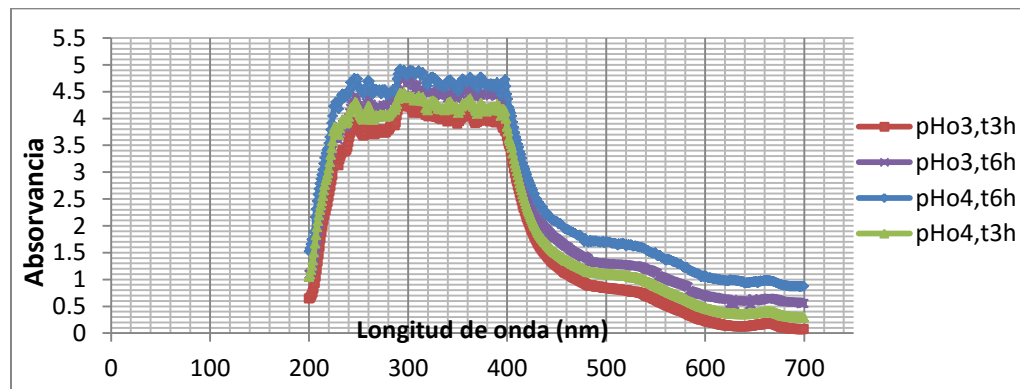
Fuente: elaboración propia, con datos de la figura 2.

Tabla XVI. **Análisis de varianza Anova para la interpretación de la hipótesis de trabajo planteada en base de las variables de operación del rendimiento de los metabolitos secundarios**

Origen de las variables	F	Valor crítico para F	Análisis ANOVA
Tiempo de maceración	267 692	161 448	Con diferencia significativa
pHo disolvente extractor	8 250	161 448	Sin diferencia significativa

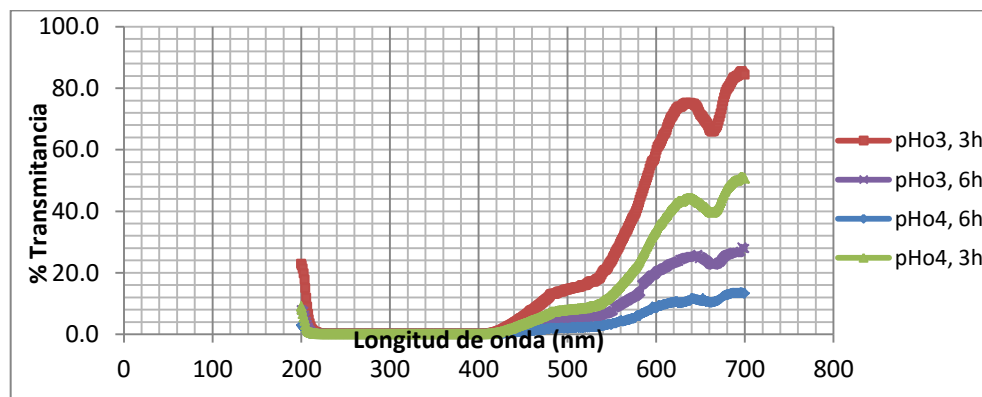
Fuente: elaboración propia, con datos de la tabla VII.

Figura 20. Promedio de espectros de absorbancia del pigmento antociánico de la cáscara del rábano rojo (*Raphanus sativus* var) en función de la longitud de onda en la región de 200-700 nm



Fuente: elaboración propia, con datos de la figura 3.

Figura 21. Promedio del porcentaje de transmitancia del pigmento antociánico de la cáscara del rábano rojo (*Raphanus sativus* var) en función de la longitud de onda en la región de 200-700 nm



Fuente: elaboración propia, con datos de la figura 4.

Tabla XVII. **Cuantificación promedio del pigmento antocianico mayoritario presentes en la cáscara del rábano rojo (*Raphanus sativus* var), mediante espectros de absorbancia**

Tipo de antocianina	pHo3, 3h	pHo4, 3h	pHo3, 6h	pHo4, 6h
	Antocianina (mg/75 g)	Antocianina (mg/75 g)	Antocianina (mg/75 g)	Antocianina (mg/75 g)
Cianidina-3,5-Glucósido	8 969	12 208	14 892	19 275
Peonidina	5 255	7 128	8 635	11 166
cianidina-3-Arabinósido	3 456	4 733	5 815	7 546
Peonidina-3-Arabinósido	3 389	4 597	5 569	7 201
cianidina-3-Galactósido	3 302	4 494	5 483	7 096
Peonidina-3-Galactósido	3 040	4 124	4 996	6 460

Fuente: elaboración propia, con datos de la tabla XII.

Tabla XVIII. **Metabolitos secundarios promedio del tipo antocianina del extracto de la cáscara del rábano rojo (*Raphanus sativus* var) mediante cromatografía en capa fina**

Variables	Estándares		
	Ácido clorogénico	Rutina	Quercitina
pHo3, 3h	+	-	-
pHo4, 3h	+	-	-
pHo3, 6h	+	-	-
pHo4, 6h	+	-	-

Fuente: elaboración propia, con datos de la tabla XV.

Tabla XIX. **pK_{ind} experimental promedio adicionando diferentes volúmenes del extracto utilizado como indicador ácido-base natural**

Variables	0,5 mL (10 gotas)	1 mL (20 gotas)	1,5 mL (30 gotas)
pHo3, 3h	8,4	8,3	8,4
pHo4, 3h	8,3	8,4	8,4
pHo3, 6h	8,4	8,4	8,4
pHo4, 6h	8,4	8,4	8,5
Promedio (%)	8,4		
Desviación estándar	±0,029		

Fuente: elaboración propia, con datos de la tabla XXIV.

Tabla XX. **Análisis de varianza Anova para la interpretación de la hipótesis de trabajo planteada en base al pK_{ind} aplicando diferentes volumen del indicador ácido-base natural**

Origen de las variables	F	Valor crítico para F	Análisis ANOVA
pK _{ind}	1 375	4 757	Sin dependencia significativa
Volumen de indicador	1 500	5 143	Sin dependencia significativa

Fuente: elaboración propia, con datos de la tabla XXV.

5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En la tabla XV se presentó el porcentaje de rendimiento de los metabolitos secundarios utilizados como indicador ácido-base natural en función de las variables de operación, pHo3 y 3h de extracción, pHo4 y 3h de extracción, pHo3 y 6h de extracción y pHo4 y 6h de extracción. Los resultados promedio de las diferentes variables fueron: 12 965 %, 13 947 %, 21 022 % y 23 053 % respectivamente. La variable que obtuvo mayor precisión para las corridas realizadas fue pHo4 y 6h de extracción al presentar un valor de desviación estándar de 0,054, mientras que la que obtuvo menor precisión fue la de pHo4 y 3h de extracción al presentar un valor de desviación estándar de 0,004.

Las diferencias de precisión, para todas las variables de operación, se debieron a la forma de manipulación y recolección del extracto de antocianinas al momento de ser llevadas a pasta deshidratada, pues en las cajas petri existieron pérdidas al ser retiradas y colocadas en los tubos eppendorf. La figura 18 que también determinó el porcentaje promedio del rendimiento de los metabolitos secundarios utilizados como indicador ácido-base natural, indica que con las variables de operación pHo4 y 6h de extracción se obtuvo mayor rendimiento, mientras que con las variables pHo3 y 3h de extracción se obtuvo el menor rendimiento.

En la tabla XVI se realizó el análisis de varianza Anova para la interpretación de la hipótesis de trabajo, planteada con base en de las variables de operación del rendimiento de la extracción de los pigmentos antociánicos de la cáscara de rábano rojo (*Raphanus sativus* var), para utilizarlos como indicador ácido-base natural, la cual indicó que dicho rendimiento presentó

diferencia significativa al variar el tiempo de extracción por maceración dinámica a reflujo, por lo que es aceptable la primer hipótesis de investigación. Sin embargo no presentó diferencia significativa al variar el pHo del disolvente extractor, por lo que es aceptable la segunda hipótesis nula.

La figura 19, promedio de espectros de absorbancia del pigmento antociánico de la cáscara del rábano rojo (*Raphanus sativus* var), en función de la longitud de onda en la región de 200-700 nm, presentó un comportamiento lineal creciente en la región de 200 a 300 nm y con mayor absorbancia, para todas las variables de operación en la región de 300 a 400 nm, finalmente con una tendencia decreciente en la región de 400 a 700 nm. Teóricamente los metabolitos secundarios del tipo antocianina se encuentran en regiones del espectro visible cercanas a 530 nm, por los que en esta figura y en esta región hubo pequeños picos que indicó la presencia de las mismas.

En la figura 20, promedio del porcentaje de transmitancia del pigmento antociánico, se observó para todas las longitudes de onda, mayor porcentaje de transmitancia en el extracto cuyas variables de operación, son pHo3 y 3h de extracción, seguidamente por los extractos con variables pHo4 y 3h de extracción, pHo 3 y 6h de extracción y finalmente pHo4 y 6h de extracción. Esto se debió a que los extractos expuestos a mayor tiempo de maceración, 6 horas, presentaron una coloración roja oscura más intensa que los demás extractos expuestos a menos tiempo de maceración, 3 horas. Para todas las variables de operación a mayor absorbancia existió menor transmitancia.

En la tabla XVII se determinó, mediante los espectros de absorbancia, que el pigmento antociánico mayoritario presentes en la cáscara del rábano rojo (*Raphanus sativus* var), fue la cianidina-3,5-glucósido y su contenido en función de las diferentes variables de operación, fueron de: 8 969 mg en 75 g

de materia prima para un pH_o3 y 3h de extracción; 12 208 mg para pH_o4 y 3h de extracción; 14 892 mg para pH_o3 y 6h de extracción y 19 275 mg para pH_o4 y 6h de extracción. Para todas las corridas analizadas, la cantidad de pigmentos antociánicos se incrementó al aumentar el tiempo de extracción.

Sin embargo, el pH_o del disolvente extractor no influyó en la cantidad de pigmentos extraídos, esto se debe a que presentó diferencia significativa de rendimiento del extracto al variar el tiempo de extracción por maceración dinámica a reflujo. Sin embargo, no fue así para el pH_o del disolvente extractor. Otros pigmentos antociánicos tales como: peonidina, cianidina-3-arabinósido, peonidina-3-arabinósido, cianidina-3-galactósido y peonidina-3-galactósido, también fueron detectados en todos los extractos analizados, todos en menor cantidad.

En la tabla XVIII, se identificó cualitativamente los metabolitos secundarios del tipo antocianina de los extractos de la cáscara del rábano rojo (*Raphanus sativus* var), mediante cromatografía en capa fina, a través de tres estándares, ácido clorogénico, rutina y quercetina. Todos los extractos analizados con las diferentes variables de operación, presentaron coincidencia de color y distancia al ácido clorogénico, dando como positiva la identificación de antocianinas.

En la tabla XIX, se mostró los valores de pK_{ind} del indicador ácido-base natural adicionando diferentes volúmenes del mismo al utilizarlo en titulaciones volumétricas ácido fuerte-base fuerte y base fuerte-ácido fuerte. Durante la experimentación, para todas las titulaciones realizadas, se observó que el punto de equivalencia presenta un color claramente visible al ojo humano al pasar de su forma ácida a básica. Sin embargo es menos visible de la forma inversa, por lo que los valores de pK_{ind} fueron obtenidos mediante el método de la primera

derivada de titulaciones ácido fuerte-base fuerte. El resultado promedio al agregar 0,5 mL (10 gotas) del indicador, 1 mL (20 gotas) del indicador y 1,5 mL (30 gotas) del indicador fue de 8,4 para todas las variables de operación analizadas.

En la tabla XX, se presentó el análisis de varianza Anova para la interpretación de la hipótesis de trabajo planteada en base al pK_{ind} , aplicando diferente volumen del indicador ácido-base natural en titulaciones ácido fuerte-base fuerte y se determinó que para todas las variables de operación el pK_{ind} , no presentó diferencia significativa del volumen del indicador utilizado durante las titulaciones y no presentó diferencia significativa de las variables de operación. Por lo que es aceptable la tercera hipótesis nula, esto es debido a que los virajes de color son los mismos aun añadiendo una pequeña cantidad del indicador, únicamente se identificó diferencia en la intensidad de color en estos virajes al incrementar el volumen utilizado del indicador ácido-base natural.

CONCLUSIONES

1. El porcentaje de rendimiento de los metabolitos secundarios utilizados como indicador ácido-base natural en función de las variables de operación fueron de: 12 965 % para un pHo3 y 3h de extracción; 13 947 % para un pHo4 y 3h de extracción; 21 022 % para un pHo3 y 6h de extracción y 23 053 % para las muestras a un pHo4 y 6h de extracción.
2. El porcentaje de rendimiento de los metabolitos secundarios utilizados como indicador ácido-base natural, se incrementa al aumentar el tiempo de maceración dinámica a reflujo. Sin embargo, no es afectado por el pHo del disolvente extractor.
3. Según el análisis de varianza, el rendimiento de la extracción de los pigmentos antociánicos de la cáscara de rábano rojo (*Raphanus sativus* var), para utilizarlos como indicador ácido-base natural, depende significativamente del tiempo de extracción por maceración dinámica a reflujo y no depende significativamente del pHo del disolvente extractor.
4. El pigmento antociánico mayoritario presente en la cáscara del rábano rojo (*Raphanus sativus* var), calculado mediante espectros de absorbancia, fue la cianidina-3,5-glucósido y su contenido en función de las diferentes variables de operación fueron de: 8 969 mg en 75 g de materia prima para un pHo3 y 3h de extracción; 12 208 mg para pHo4 y 3h de extracción; 14 892 mg para pHo3 y 6h de extracción y 19 275 mg para pHo4 y 6h de extracción.

5. La cantidad de pigmentos antociánicos se incrementa al aumentar el tiempo de extracción. Sin embargo, el pHo del disolvente extractor no influye en la cantidad de pigmentos extraídos.
6. Los metabolitos secundarios del tipo antocianina del extracto de la cáscara del rábano rojo (*Raphanus sativus var*) para todas las variables de operación, fueron identificados de forma cualitativa únicamente con el estándar ácido clorogénico, mediante la técnica de tamizaje fitoquímico por cromatografía en capa fina.
7. El valor promedio de pK_{ind} del extracto utilizado como indicador ácido-base natural, en función de las variables de operación y diferentes volúmenes agregados en titulaciones volumétricas, fue de 8,4.
8. Según el análisis de varianza, el valor de pK_{ind} del extracto utilizado como indicador ácido-base natural en titulaciones ácido fuerte-base fuerte, no presenta diferencia significativa al variar el volumen del indicador utilizado durante las titulaciones ni al variar el tiempo de extracción y pHo del disolvente extractor.

RECOMENDACIONES

1. Realizar análisis sobre los virajes de color del indicador ácido-base natural obtenida del extracto de cáscara de rábano rojo (*Raphanus sativus* var), en titulaciones ácido débil-base fuerte, base débil-ácido fuerte y ácido débil-base débil.
2. Realizar un estudio comparativo de las intensidades de los virajes del indicador ácido-base natural obtenidos de la cáscara de rábano rojo, variando el porcentaje de humedad de la materia prima, seco como en estado fresco.
3. Estudiar la elaboración de papel indicador ácido-base para realizar análisis con el indicador ácido-base natural, obtenida del extracto de cáscara de rábano rojo (*Raphanus sativus* var).
4. Realizar análisis con otros tipos de solventes para reconstituir la pasta deshidratada utilizada como indicador ácido-base natural, obtenida del extracto de cáscara de rábano rojo (*Raphanus sativus* var).
5. Realizar un análisis de vida útil al indicador reconstituido ácido-base natural como a la pasta deshidratada con propiedades cromóforas ácido-base, obtenidas del extracto de cáscara de rábano rojo (*Raphanus sativus* var).

BIBLIOGRAFÍA

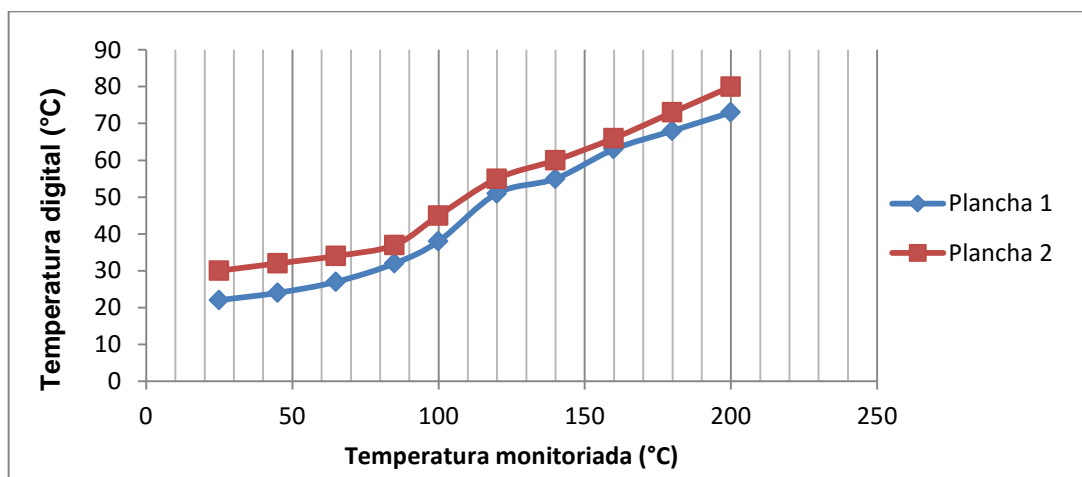
1. *Equilibrio ácido-base*. [en línea]. <<https://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/32428/1/beltranhernandez.pdf>> [Consulta: 24 de noviembre de 2014].
2. *Estructuras antociánicas*. [en línea]. <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422008000500051> [Consulta: 23 de marzo de 2015].
3. *Extracción sólido-líquido*. [en línea]. <<https://www.google.com.gt/search?q=extracci%C3%B3n+sólido+líquido+diagrama+de+equilibrio+triángulo+rectángulo>>. [Consulta: 17 de febrero de 2015].
4. FUENTES MIRANDA, Walter Vinicio. *extracción, cuantificación y estabilidad de colorantes naturales presentes en los frutos de Prunus Capuli Cav. (cereza), Prunus urticaefolius Poir (mora) y Sambucus Canadensis L. (saúco) como alternativas naturales de consumo de los colorantes artificiales rojo No.40, Rojo No.3 y Rojo No.2, en bebidas en el rango de pH: 3, 4 y 5*. Trabajo de graduación de Lic. Química. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, 2005. 230 p.
5. DEVORE, G. *Química orgánica*. México: Publicaciones Culturales, 1990. 646 p.

6. *Generalidades de antocianinas*. [en línea]. <<http://www.bdigital.unal.edu.co/5351/1/197518.2011.pdf>>. [Consulta: 24 de marzo de 2015].
7. *Indicadores ácido-base*. [en línea]. <<http://quimica.laguia2000.com/general/indicadores-acido-base>>. [Consulta: 18 de agosto de 2015].
8. McCABE, Warren L.; SMITH, Juliany; HARRIOT Meter. *Operaciones unitarias en ingeniería química*. 4a ed. México: McGraw-Hill, 2000. 1114 p.
9. *Neutralización de ácidos y bases*. [en línea]. <<http://www.ehu.es/biomoleculas/ph/neutra.htm#n2>>[. Consulta: 14 de enero de 2015].
10. *Propiedades físicas del rábano*. [en línea]. <<http://www.infoagro.com/hortalizas/rabano.htm>>. [Consulta: 10 de octubre de 2014].
11. *Transferencia de materia*. [en línea]. <<http://fjarabo.webs.ull.es/Practics/Oba/ObaFiles/AMater.pdf>>. [Consulta: 17 de marzo de 2015].
12. TREYBAL, Robert E. *Operación en transferencia de masa*. 2a ed. México: McGraw-Hill, 2000. 875 p.
13. WALPOLE, Ronald E. al. et *Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias*. 8a ed. México: Pearson Educación, 2007. 720 p.

APÉNDICES

Apéndice 1. Datos Calculados

Figura 1. Prueba preliminar, calibración de temperatura de las planchas de calentamiento



Fuente: práctica experimental de la evaluación del indicador ácido-base natural (UTRECHT-EFPEM).

Tabla I. Ecuación de la calibración de las planchas utilizadas

Núm. plancha	Ecuación	R ²
1	$y = 0,3232x + 9,1027$	0,975
2	$y = 0,3066x + 16,858$	0,971

Fuente: elaboración propia, con datos calculados, figura 1.

Tabla II. **pH de las soluciones utilizadas para todas las variables de operación**

Solución	pH±0.1
Extracto líquido	5.3
Extracto líquido rotavaporado	5.3
Pasta deshidratada resultituida	5.3
Ácido cítrico 1%	5.1
IPA 83% ($\epsilon=30$)	6.8
Agua desmineralizada	7.1
Solución NaOH 0.1M	12.9
Solución HCl 0.1M	1.1







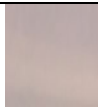

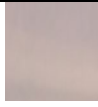







Fuente: práctica experimental de la evaluación del indicador ácido-base natural (UTRECHT-EFPEM).

Tabla III. **Pruebas preliminares de porcentajes de humedad del extracto de rábano rojo como pasta deshidratada y detección de sus propiedades cromóforas ácido-base**

	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3
%H_{BS}	24,5	30	36,17
Tiempo en horno al vacío (h)	5	4	4
Temperatura del horno al vacío (°C)	50	50	40 (2h) 35 (2h)
Presión del horno al vacío (inHg)	13	20	20
Obsevación	Pérdida de propiedad	Pérdida de propiedad	Propiedad cromófora

Fuente: práctica experimental de la evaluación del indicador ácido-base natural (LIEXVE).

Tabla IV. **Prueba preliminar, virajes del indicador ácido-base natural de la cáscara de rábano rojo por propiedad cromófora según las evaluaciones por titulación ácido fuerte-base fuerte**

Observación (estructura de antocianina)	pH	color	
Forma ácida: catión flavilio	1		
Forma ácida: catión flavilio	2		
	3		
Pseudo base carbinol. Incoloro	4		
Chalcona Incoloro	5		
Base quinoidal. Color azul inestable	6		
Base quinoidal. Color azul inestable	7		
Punto de equivalencia. pK_{ind}	8,4		
	9		
	10		
	11		
	12		
	13		
	14		

Fuente: práctica experimental de la evaluación del indicador ácido-base natural (LAFIQ).

Tabla V. Pérdidas de la pasta deshidratada utilizada como indicador ácido-base por recolección en cajas petri

Variable	Corrida	Núm. de Caja petri	Peso inicial	Peso inicial + extracto (25mL)	Peso final	Peso final – extracto (25mL)	Pérdida
pHo3 3 h	1	1	33,13	53,112	36,42	33,48	0,35
		2	95,04	116,15	98,28	95,41	0,37
		3	36,9	57,89	40,13	37,2	0,3
	2	1	91,83	113,32	94,99	92,14	0,31
		2	43,58	63,07	46,82	44,01	0,43
		3	73,598	95,281	76,79	73,89	0,292
	3	1	34,87	55,05	37,95	35,19	0,32
		2	74,25	94,65	77,67	74,501	0,251
		3	93,12	114,19	96,439	93,49	0,37
pHo4 3 h	1	1	33,7	57,66	37,171	34,08	0,38
		2	95,12	119,43	98,58	95,61	0,49
		3	37,2	61,187	40,69	37,51	0,31
	2	1	91,83	115,97	95,31	92,14	0,31
		2	87,14	111,932	90,58	87,49	0,35
		3	73,82	98,06	77,35	74,19	0,37
	3	1	34,76	58,98	38,26	35,19	0,43
		2	74,2	98,64	77,71	74,501	0,301
		3	93,14	117,743	96,64	93,49	0,35
pHo3 6 h	1	1	73,63	106,63	78,91	74,04	0,41
		2	34,77	68,27	40,09	35,15	0,38
		3	43,61	77,61	48,81	43,96	0,35
	2	1	91,76	124,86	96,99	91,44	0,32
		2	93,02	126,12	98,21	92,74	0,28
		3	34,9	68	40,19	34,54	0,36
	3	1	93,09	127,09	98,25	92,77	0,32
		2	74,25	107,57	79,56	73,96	0,29
		3	34,76	68,52	40,01	34,49	0,27
pHo 4 6 h	1	1	93,09	129,09	98,84	92,77	0,32
		2	34,76	71,43	40,56	34,49	0,27
		3	43,61	80,11	49,4	43,96	0,35
	2	1	74,31	111,21	80,14	76,66	2,35
		2	93,02	129,12	98,79	92,74	0,28
		3	34,9	71,9	40,59	34,54	0,36
	3	1	34,77	70,98	40,59	35,15	0,38
		2	74,25	110,57	79,94	73,96	0,29
		3	91,76	128,65	97,68	91,44	0,32

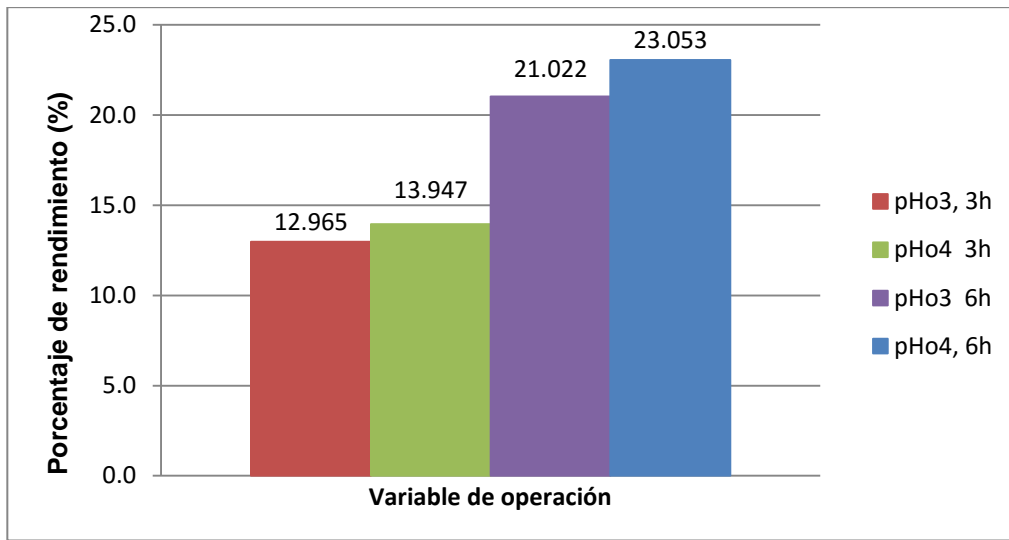
Fuente: práctica experimental de la evaluación del indicador ácido-base natural (LIEXVE).

Tabla VI. **Porcentaje promedio del rendimiento de los metabolitos secundarios utilizados como indicador ácido-base natural**

Variable	Corrida	Núm. de Caja petri	Extracto en pasta (g)	Pasta total (g)	Rendimiento (%)	$\bar{X} \pm S$
pHo3 3 h	1	1	3,29	9,76	13,013	12,965± 0,049
		2	3,24			
		3	3,23			
	2	1	3,16	9,592	12,789	
		2	3,24			
		3	3,192			
	3	1	3,08	9,819	13,092	
		2	3,42			
		3	3,319			
pHo4 3 h	1	1	3,471	10,421	13,895	13,947± 0,007
		2	3,46			
		3	3,49			
	2	1	3,48	10,45	13,933	
		2	3,44			
		3	3,53			
	3	1	3,5	10,51	14,013	
		2	3,51			
		3	3,5			
pHo3 6 h	1	1	5,28	15,8	21,067	21,022± 0,009
		2	5,32			
		3	5,2			
	2	1	5,23	15,71	20,947	
		2	5,19			
		3	5,29			
	3	1	5,16	15,79	21,053	
		2	5,31			
		3	5,25			
pHo 4 6 h	1	1	5,75	17,34	23,120	23,053± 0,054
		2	5,8			
		3	5,79			
	2	1	5,83	17,38	23,173	
		2	5,77			
		3	5,69			
	3	1	5,82	17,15	22,867	
		2	5,69			
		3	5,92			

Fuente: elaboración propia, con datos calculados de la tabla V.

Figura 2. **Porcentaje promedio del rendimiento de los metabolitos secundarios utilizados como indicador ácido-base natural en base de las variables de operación**



Fuente: elaboración propia, con datos calculados de la tabla VI.

Tabla VII. **Análisis de variación Anova para la interpretación de la hipótesis de trabajo planteada en base de las variables de operación**

Origen de las variables	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Promedio de cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Tiempo de maceración	73,642	1	73,642	267,692	0,039	161,448
pHo disolvente extractor	2,270	1	2,270	8,250	0,213	161,448
Error	0,275	1	0,275			
Total	76,187	3				

Fuente: elaboración propia, con datos de la tabla VI.

Tabla VIII. **Datos obtenidos de la lectura de los espectros de absorbancia de las muestras analizadas**

Longitud de onda (Nm)	Absorbancia promedio extracto líquido				Absorbancia promedio extracto líquido reconstituido			
	pHo3 3h	pHo4 3h	pHo3 6h	pHo4 6h	pHo3 3h	pHo4 3h	pHo3 6h	pHo4 6h
200	0,641	1,046	1,099	1,526	0,719	1,146	1,238	1,680
205	0,827	1,507	1,277	1,892	1,120	1,660	1,411	2,005
210	1,458	2,199	1,912	2,689	1,755	2,375	2,096	2,802
215	2,104	2,663	2,563	3,158	2,324	2,817	2,717	3,301
220	2,541	3,075	3,005	3,541	2,751	3,229	3,114	3,752
225	3,106	3,765	3,575	4,226	3,306	3,926	3,715	4,401
230	3,122	3,696	3,596	4,178	3,346	3,857	3,736	4,299
235	3,418	3,966	3,897	4,453	3,642	4,127	4,02	4,625
240	3,559	4,034	4,013	4,526	3,779	4,244	4,198	4,698
245	3,854	4,237	4,313	4,627	4,074	4,447	4,518	4,816
250	3,844	4,168	4,244	4,569	4,067	4,378	4,448	4,746
255	3,68	3,98	4,082	4,463	3,856	4,145	4,303	4,639
260	3,94	4,234	4,39	4,715	4,16	4,414	4,554	4,921
265	3,708	3,982	4,183	4,468	3,919	4,116	4,386	4,674
270	3,768	4,035	4,238	4,526	3,961	4,189	4,439	4,752
275	3,749	4,059	4,248	4,533	3,872	4,293	4,451	4,745
280	3,783	4,052	4,377	4,444	4,006	4,186	4,589	4,646
285	3,896	4,193	4,385	4,54	4,119	4,358	4,588	4,76
290	4,149	4,368	4,642	4,831	4,372	4,528	4,851	5,035
295	4,266	4,454	4,764	4,882	4,489	4,658	4,983	5,093
300	4,232	4,379	4,735	4,867	4,455	4,533	4,939	5,089
305	4,131	4,393	4,639	4,886	4,354	4,613	4,851	5,117
310	4,181	4,381	4,594	4,859	4,404	4,586	4,808	5,09
315	4,109	4,393	4,527	4,861	4,334	4,498	4,734	5,085
320	4,053	4,153	4,476	4,611	4,278	4,335	4,684	4,842
325	4,077	4,33	4,505	4,778	4,302	4,512	4,726	5,002
330	4,036	4,224	4,469	4,662	4,261	4,336	4,663	4,867
335	4,006	4,19	4,444	4,618	4,236	4,302	4,611	4,83
340	3,938	4,278	4,381	4,696	4,168	4,39	4,55	4,921
345	4,058	4,208	4,506	4,616	4,288	4,438	4,675	4,848

Continuación de la tabla VIII.

350	3,899	4,183	4,352	4,581	4,124	4,301	4,563	4,818
355	4,04	4,267	4,498	4,737	4,265	4,485	4,677	4,949
360	4,083	4,27	4,546	4,67	4,308	4,388	4,742	4,878
365	4,056	4,255	4,524	4,681	4,281	4,373	4,726	4,89
370	3,931	4,087	4,404	4,563	4,152	4,289	4,615	4,774
375	3,985	4,255	4,463	4,741	4,206	4,483	4,642	4,952
380	4,045	4,172	4,528	4,633	4,266	4,304	4,741	4,837
385	3,958	4,154	4,446	4,59	4,179	4,334	4,65	4,824
390	3,941	4,26	4,434	4,671	4,162	4,481	4,647	4,874
395	3,889	4,139	4,387	4,525	4,11	4,37	4,589	4,717
400	3,666	3,854	4,077	4,454	3,887	4,03	4,281	4,631
405	3,284	3,459	3,755	4,041	3,505	3,635	3,936	4,23
410	2,823	3,02	3,260	3,603	3,044	3,251	3,442	3,771
415	2,469	2,662	2,874	3,258	2,686	2,893	3,077	3,446
420	2,154	2,353	2,611	2,954	2,371	2,584	2,81	3,127
425	1,922	2,125	2,384	2,708	2,139	2,355	2,589	2,913
430	1,715	1,925	2,182	2,503	1,935	2,155	2,392	2,658
435	1,566	1,779	2,038	2,330	1,786	2,009	2,233	2,536
440	1,447	1,66	1,93	2,246	1,667	1,889	2,127	2,452
445	1,342	1,56	1,83	2,117	1,562	1,789	2,015	2,326
450	1,263	1,486	1,756	2,089	1,483	1,715	1,932	2,303
455	1,188	1,42	1,686	2,023	1,408	1,649	1,859	2,237
460	1,112	1,353	1,615	1,936	1,324	1,58	1,794	2,148
465	1,063	1,304	1,545	1,892	1,275	1,531	1,734	2,104
470	1,011	1,256	1,488	1,839	1,223	1,483	1,67	2,053
475	0,961	1,211	1,433	1,809	1,187	1,438	1,614	2,022
480	0,912	1,165	1,413	1,745	1,138	1,392	1,593	1,957
485	0,886	1,14	1,328	1,697	1,112	1,367	1,508	1,91
490	0,866	1,121	1,313	1,724	1,092	1,349	1,494	1,935
495	0,857	1,113	1,309	1,697	1,083	1,341	1,492	1,909
500	0,841	1,104	1,298	1,708	1,067	1,329	1,481	1,92
501	0,838	1,101	1,296	1,706	1,064	1,326	1,48	1,919
502	0,836	1,099	1,295	1,7	1,062	1,324	1,479	1,913
503	0,833	1,097	1,293	1,697	1,059	1,322	1,477	1,91
504	0,831	1,096	1,292	1,697	1,057	1,321	1,476	1,91
505	0,829	1,096	1,291	1,678	1,055	1,321	1,475	1,891

Continuación de la tabla VIII.

506	0,827	1,095	1,29	1,675	1,053	1,32	1,474	1,888
507	0,825	1,093	1,289	1,674	1,051	1,318	1,473	1,888
508	0,823	1,092	1,288	1,674	1,049	1,317	1,472	1,888
509	0,821	1,09	1,287	1,673	1,047	1,315	1,471	1,887
510	0,819	1,087	1,286	1,671	1,045	1,312	1,468	1,885
511	0,817	1,087	1,285	1,657	1,043	1,312	1,467	1,872
512	0,817	1,084	1,286	1,641	1,043	1,309	1,468	1,856
513	0,816	1,083	1,286	1,666	1,042	1,308	1,468	1,881
514	0,813	1,081	1,284	1,654	1,039	1,306	1,466	1,869
515	0,81	1,079	1,282	1,671	1,036	1,302	1,464	1,886
516	0,806	1,076	1,279	1,66	1,032	1,299	1,461	1,875
517	0,801	1,075	1,275	1,678	1,027	1,298	1,457	1,893
518	0,8	1,074	1,275	1,67	1,026	1,297	1,457	1,883
519	0,799	1,073	1,275	1,651	1,025	1,296	1,457	1,864
520	0,799	1,072	1,276	1,629	1,025	1,295	1,458	1,842
521	0,798	1,07	1,276	1,653	1,024	1,293	1,46	1,866
522	0,793	1,065	1,272	1,638	1,019	1,288	1,456	1,851
523	0,787	1,06	1,267	1,652	1,013	1,283	1,451	1,865
524	0,781	1,056	1,262	1,64	1,007	1,279	1,446	1,853
525	0,775	1,049	1,257	1,652	1,001	1,272	1,441	1,865
526	0,77	1,045	1,253	1,641	0,985	1,268	1,437	1,854
527	0,767	1,042	1,251	1,62	0,982	1,265	1,435	1,835
528	0,766	1,042	1,251	1,622	0,981	1,265	1,435	1,837
529	0,768	1,043	1,254	1,624	0,983	1,266	1,438	1,838
530	0,769	1,043	1,256	1,625	0,984	1,266	1,44	1,839
531	0,766	1,038	1,254	1,621	0,981	1,261	1,438	1,835
532	0,76	1,031	1,249	1,615	0,975	1,254	1,434	1,829
533	0,754	1,024	1,244	1,609	0,969	1,245	1,429	1,825
534	0,749	1,019	1,24	1,605	0,964	1,24	1,425	1,821
535	0,745	1,014	1,237	1,601	0,96	1,235	1,422	1,817
536	0,742	1,01	1,235	1,598	0,957	1,231	1,42	1,814
537	0,735	1,002	1,229	1,591	0,95	1,223	1,414	1,807
538	0,725	0,993	1,22	1,583	0,94	1,214	1,405	1,799
539	0,713	0,982	1,209	1,573	0,928	1,203	1,393	1,791
540	0,699	0,971	1,196	1,563	0,914	1,192	1,38	1,781
541	0,689	0,961	1,187	1,544	0,904	1,182	1,371	1,762

Continuación de la tabla VIII.

542	0,684	0,955	1,183	1,539	0,899	1,176	1,367	1,757
543	0,681	0,95	1,181	1,535	0,896	1,171	1,365	1,753
544	0,678	0,945	1,179	1,515	0,893	1,166	1,363	1,733
545	0,671	0,937	1,173	1,508	0,886	1,158	1,357	1,726
546	0,661	0,927	1,164	1,499	0,876	1,148	1,347	1,717
547	0,65	0,915	1,154	1,489	0,865	1,136	1,337	1,707
548	0,64	0,906	1,145	1,49	0,855	1,127	1,328	1,707
549	0,632	0,898	1,138	1,497	0,847	1,119	1,321	1,714
550	0,624	0,889	1,131	1,499	0,839	1,11	1,314	1,716
551	0,615	0,879	1,123	1,462	0,83	1,1	1,306	1,679
552	0,604	0,868	1,113	1,442	0,819	1,067	1,296	1,659
553	0,594	0,857	1,073	1,441	0,809	1,056	1,256	1,658
554	0,583	0,848	1,063	1,447	0,798	1,047	1,248	1,664
555	0,574	0,84	1,055	1,45	0,789	1,039	1,24	1,666
556	0,566	0,831	1,048	1,414	0,781	1,03	1,233	1,63
557	0,558	0,823	1,041	1,407	0,773	1,022	1,226	1,623
558	0,55	0,813	1,034	1,398	0,765	1,012	1,219	1,615
559	0,541	0,804	1,026	1,374	0,756	1,003	1,211	1,591
560	0,532	0,795	1,018	1,366	0,747	0,994	1,203	1,583
561	0,523	0,786	1,01	1,358	0,738	0,985	1,195	1,575
562	0,514	0,778	1,002	1,38	0,729	0,977	1,187	1,597
563	0,506	0,77	0,995	1,375	0,721	0,969	1,18	1,59
564	0,498	0,761	0,988	1,369	0,713	0,96	1,173	1,584
565	0,49	0,752	0,981	1,364	0,705	0,951	1,166	1,579
566	0,482	0,743	0,974	1,359	0,697	0,942	1,159	1,574
567	0,475	0,736	0,968	1,338	0,69	0,935	1,154	1,553
568	0,469	0,729	0,963	1,334	0,684	0,928	1,149	1,549
569	0,461	0,722	0,956	1,33	0,676	0,921	1,142	1,547
570	0,453	0,713	0,949	1,325	0,668	0,912	1,136	1,542
571	0,444	0,704	0,941	1,32	0,659	0,903	1,128	1,537
572	0,436	0,696	0,934	1,298	0,651	0,895	1,121	1,515
573	0,428	0,688	0,927	1,293	0,643	0,887	1,114	1,51
574	0,423	0,681	0,923	1,289	0,638	0,88	1,109	1,503
575	0,417	0,674	0,918	1,286	0,632	0,873	1,104	1,5
576	0,411	0,667	0,913	1,283	0,626	0,866	1,098	1,497
577	0,405	0,66	0,908	1,25	0,62	0,859	1,093	1,464

Continuación de la tabla VIII.

578	0,398	0,653	0,902	1,236	0,613	0,852	1,087	1,45
579	0,389	0,645	0,894	1,219	0,604	0,844	1,078	1,433
580	0,379	0,635	0,885	1,219	0,594	0,834	1,069	1,433
581	0,37	0,625	0,877	1,224	0,585	0,824	1,061	1,439
582	0,36	0,615	0,868	1,225	0,575	0,814	1,052	1,44
583	0,351	0,604	0,86	1,184	0,566	0,803	1,044	1,399
584	0,341	0,595	0,795	1,176	0,556	0,794	0,979	1,391
585	0,334	0,585	0,789	1,167	0,549	0,784	0,973	1,382
586	0,325	0,577	0,781	1,16	0,541	0,776	0,965	1,375
587	0,317	0,568	0,774	1,152	0,533	0,767	0,958	1,367
588	0,31	0,559	0,768	1,144	0,526	0,758	0,952	1,361
589	0,302	0,549	0,761	1,135	0,518	0,748	0,945	1,352
590	0,294	0,541	0,754	1,128	0,51	0,74	0,938	1,345
591	0,288	0,532	0,749	1,12	0,504	0,731	0,933	1,337
592	0,28	0,524	0,742	1,113	0,498	0,723	0,926	1,33
593	0,27	0,516	0,733	1,106	0,488	0,715	0,917	1,323
594	0,261	0,507	0,725	1,098	0,479	0,706	0,909	1,315
595	0,255	0,5	0,72	1,092	0,473	0,699	0,904	1,309
596	0,251	0,494	0,717	1,051	0,469	0,693	0,901	1,268
597	0,249	0,489	0,716	1,072	0,467	0,688	0,9	1,286
598	0,246	0,484	0,714	1,057	0,464	0,683	0,898	1,271
599	0,239	0,478	0,708	1,07	0,457	0,677	0,892	1,284
600	0,232	0,47	0,702	1,054	0,45	0,669	0,886	1,268
605	0,207	0,444	0,682	1,037	0,425	0,643	0,868	1,254
610	0,186	0,42	0,666	1,013	0,404	0,619	0,853	1,23
615	0,162	0,397	0,647	0,995	,38	0,596	0,834	1,21
620	0,145	0,38	0,635	0,983	0,363	0,579	0,82	1,198
625	0,133	0,366	0,554	0,996	0,361	0,563	0,754	1,213
630	0,129	0,363	0,531	0,986	0,357	0,56	0,726	1,203
635	0,124	0,356	0,603	0,971	0,354	0,553	0,789	1,185
640	0,125	0,356	0,599	0,936	0,355	0,553	0,784	1,148
645	0,129	0,361	0,532	0,946	0,359	0,56	0,719	1,159
650	0,146	0,371	0,599	0,961	0,376	0,57	0,786	1,176
655	0,158	0,383	0,616	0,956	0,388	0,584	0,804	1,171
660	0,174	0,397	0,637	0,981	0,404	0,598	0,825	1,197
665	0,181	0,401	0,649	0,98	0,411	0,606	0,837	1,196

Continuación de la tabla VIII.

670	0,164	0,384	0,637	0,958	0,381	0,589	0,824	1,173
675	0,129	0,348	0,613	0,917	0,346	0,553	0,802	1,134
680	0,1	0,323	0,589	0,893	0,317	0,533	0,778	1,11
685	0,087	0,309	0,581	0,876	0,304	0,519	0,771	1,09
690	0,078	0,302	0,577	0,874	0,302	0,512	0,767	1,092
695	0,071	0,294	0,571	0,871	0,295	0,504	0,759	1,089
700	0,074	0,296	0,555	0,878	0,298	0,506	0,743	1,095

Fuente: práctica experimental de la evaluación del indicador ácido-base natural (LAFIQ).

Tabla IX. **Porcentaje de transmitancia promedio de la lectura de los espectros de absorbancia de las muestras analizadas**

Longitud de onda (Nm)	% Transmitancia promedio extracto líquido				% Transmitancia promedio extracto líquido reconstituido			
	pHo3 3h	pHo4 3h	pHo3 6h	pHo4 6h	pHo3 3h	pHo4 3h	pHo3 6h	pHo4 6h
200	22,85 6	8,995	7,962	2,979	19,099	7,145	5,781	2,089
205	14,89 4	3,112	5,284	1,282	7,586	2,188	3,882	0,989
210	3,483	0,632	1,225	0,205	1,758	0,422	0,802	0,158
215	0,787	0,217	0,274	0,070	0,474	0,152	0,192	0,050
220	0,288	0,084	0,099	0,029	0,177	0,059	0,077	0,018
225	0,078	0,017	0,027	0,006	0,049	0,012	0,019	0,004
230	0,076	0,020	0,025	0,007	0,045	0,014	0,018	0,005
235	0,038	0,011	0,013	0,004	0,023	0,007	0,010	0,002
240	0,028	0,009	0,010	0,003	0,017	0,006	0,006	0,002
245	0,014	0,006	0,005	0,002	0,008	0,004	0,003	0,002
250	0,014	0,007	0,006	0,003	0,009	0,004	0,004	0,002
255	0,021	0,010	0,008	0,003	0,014	0,007	0,005	0,002
260	0,011	0,006	0,004	0,002	0,007	0,004	0,003	0,001
265	0,020	0,010	0,007	0,003	0,012	0,008	0,004	0,002
270	0,017	0,009	0,006	0,003	0,011	0,006	0,004	0,002
275	0,018	0,009	0,006	0,003	0,013	0,005	0,004	0,002

Continuación de la tabla IX.

280	0,016	0,009	0,004	0,004	0,010	0,007	0,003	0,002
285	0,013	0,006	0,004	0,003	0,008	0,004	0,003	0,002
290	0,007	0,004	0,002	0,001	0,004	0,003	0,001	0,001
295	0,005	0,004	0,002	0,001	0,003	0,002	0,001	0,001
300	0,006	0,004	0,002	0,001	0,004	0,003	0,001	0,001
305	0,007	0,004	0,002	0,001	0,004	0,002	0,001	0,001
310	0,007	0,004	0,003	0,001	0,004	0,003	0,002	0,001
315	0,008	0,004	0,003	0,001	0,005	0,003	0,002	0,001
320	0,009	0,007	0,003	0,002	0,005	0,005	0,002	0,001
325	0,008	0,005	0,003	0,002	0,005	0,003	0,002	0,001
330	0,009	0,006	0,003	0,002	0,005	0,005	0,002	0,001
335	0,010	0,006	0,004	0,002	0,006	0,005	0,002	0,001
340	0,012	0,005	0,004	0,002	0,007	0,004	0,003	0,001
345	0,009	0,006	0,003	0,002	0,005	0,004	0,002	0,001
350	0,013	0,007	0,004	0,003	0,008	0,005	0,003	0,002
355	0,009	0,005	0,003	0,002	0,005	0,003	0,002	0,001
360	0,008	0,005	0,003	0,002	0,005	0,004	0,002	0,001
365	0,009	0,006	0,003	0,002	0,005	0,004	0,002	0,001
370	0,012	0,008	0,004	0,003	0,007	0,005	0,002	0,002
375	0,010	0,006	0,003	0,002	0,006	0,003	0,002	0,001
380	0,009	0,007	0,003	0,002	0,005	0,005	0,002	0,001
385	0,011	0,007	0,004	0,003	0,007	0,005	0,002	0,001
390	0,011	0,005	0,004	0,002	0,007	0,003	0,002	0,001
395	0,013	0,007	0,004	0,003	0,008	0,004	0,003	0,002
400	0,022	0,014	0,008	0,004	0,013	0,009	0,005	0,002
405	0,052	0,035	0,018	0,009	0,031	0,023	0,012	0,006
410	0,150	0,095	0,055	0,025	0,090	0,056	0,036	0,017
415	0,340	0,218	0,134	0,055	0,206	0,128	0,084	0,036
420	0,701	0,444	0,245	0,111	0,426	0,261	0,155	0,075
425	1,197	0,750	0,413	0,196	0,726	0,442	0,258	0,122
430	1,928	1,189	0,658	0,314	1,161	0,700	0,406	0,220
435	2,716	1,663	0,916	0,468	1,637	0,979	0,585	0,291
440	3,573	2,188	1,175	0,568	2,153	1,291	0,746	0,353
445	4,550	2,754	1,479	0,764	2,742	1,626	0,966	0,472
450	5,458	3,266	1,754	0,815	3,289	1,928	1,169	0,498
455	6,486	3,802	2,061	0,948	3,908	2,244	1,384	0,579

Continuación de la tabla IX.

460	7,727	4,436	2,427	1,159	4,742	2,630	1,607	0,711
465	8,650	4,966	2,851	1,282	5,309	2,944	1,845	0,787
470	9,750	5,546	3,251	1,449	5,984	3,289	2,138	0,885
475	10,940	6,152	3,690	1,552	6,501	3,648	2,432	0,951
480	12,246	6,839	3,864	1,799	7,278	4,055	2,553	1,104
485	13,002	7,244	4,699	2,009	7,727	4,295	3,105	1,230
490	13,614	7,568	4,864	1,888	8,091	4,477	3,206	1,161
495	13,900	7,709	4,909	2,009	8,260	4,560	3,221	1,233
500	14,421	7,870	5,035	1,959	8,570	4,688	3,304	1,202
501	14,521	7,925	5,058	1,968	8,630	4,721	3,311	1,205
502	14,588	7,962	5,070	1,995	8,670	4,742	3,319	1,222
503	14,689	7,998	5,093	2,009	8,730	4,764	3,334	1,230
504	14,757	8,017	5,105	2,009	8,770	4,775	3,342	1,230
505	14,825	8,017	5,117	2,099	8,810	4,775	3,350	1,285
506	14,894	8,035	5,129	2,113	8,851	4,786	3,357	1,294
507	14,962	8,072	5,140	2,118	8,892	4,808	3,365	1,294
508	15,031	8,091	5,152	2,118	8,933	4,819	3,373	1,294
509	15,101	8,128	5,164	2,123	8,974	4,842	3,381	1,297
510	15,171	8,185	5,176	2,133	9,016	4,875	3,404	1,303
511	15,241	8,185	5,188	2,203	9,057	4,875	3,412	1,343
512	15,241	8,241	5,176	2,286	9,057	4,909	3,404	1,393
513	15,276	8,260	5,176	2,158	9,078	4,920	3,404	1,315
514	15,382	8,299	5,200	2,218	9,141	4,943	3,420	1,352
515	15,488	8,337	5,224	2,133	9,204	4,989	3,436	1,300
516	15,631	8,395	5,260	2,188	9,290	5,023	3,459	1,334
517	15,812	8,414	5,309	2,099	9,397	5,035	3,491	1,279
518	15,849	8,433	5,309	2,138	9,419	5,047	3,491	1,309
519	15,885	8,453	5,309	2,234	9,441	5,058	3,491	1,368
520	15,885	8,472	5,297	2,350	9,441	5,070	3,483	1,439
521	15,922	8,511	5,297	2,223	9,462	5,093	3,467	1,361
522	16,106	8,610	5,346	2,301	9,572	5,152	3,499	1,409
523	16,331	8,710	5,408	2,228	9,705	5,212	3,540	1,365
524	16,558	8,790	5,470	2,291	9,840	5,260	3,581	1,403
525	16,788	8,933	5,534	2,228	9,977	5,346	3,622	1,365
526	16,982	9,016	5,585	2,286	10,351	5,395	3,656	1,400
527	17,100	9,078	5,610	2,399	10,423	5,433	3,673	1,462

Continuación de la tabla IX.

528	17,140	9,078	5,610	2,388	10,447	5,433	3,673	1,455
529	17,061	9,057	5,572	2,377	10,399	5,420	3,648	1,452
530	17,022	9,057	5,546	2,371	10,375	5,420	3,631	1,449
531	17,140	9,162	5,572	2,393	10,447	5,483	3,648	1,462
532	17,378	9,311	5,636	2,427	10,593	5,572	3,681	1,483
533	17,620	9,462	5,702	2,460	10,740	5,689	3,724	1,496
534	17,824	9,572	5,754	2,483	10,864	5,754	3,758	1,510
535	17,989	9,683	5,794	2,506	10,965	5,821	3,784	1,524
536	18,113	9,772	5,821	2,523	11,041	5,875	3,802	1,535
537	18,408	9,954	5,902	2,564	11,220	5,984	3,855	1,560
538	18,836	10,162	6,026	2,612	11,482	6,109	3,936	1,589
539	19,364	10,423	6,180	2,673	11,803	6,266	4,046	1,618
540	19,999	10,691	6,368	2,735	12,190	6,427	4,169	1,656
541	20,464	10,940	6,501	2,858	12,474	6,577	4,256	1,730
542	20,701	11,092	6,561	2,891	12,618	6,668	4,295	1,750
543	20,845	11,220	6,592	2,917	12,706	6,745	4,315	1,766
544	20,989	11,350	6,622	3,055	12,794	6,823	4,335	1,849
545	21,330	11,561	6,714	3,105	13,002	6,950	4,395	1,879
546	21,827	11,830	6,855	3,170	13,305	7,112	4,498	1,919
547	22,387	12,162	7,015	3,243	13,646	7,311	4,603	1,963
548	22,909	12,417	7,161	3,236	13,964	7,464	4,699	1,963
549	23,335	12,647	7,278	3,184	14,223	7,603	4,775	1,932
550	23,768	12,912	7,396	3,170	14,488	7,762	4,853	1,923
551	24,266	13,213	7,534	3,451	14,791	7,943	4,943	2,094
552	24,889	13,552	7,709	3,614	15,171	8,570	5,058	2,193
553	25,468	13,900	8,453	3,622	15,524	8,790	5,546	2,198
554	26,122	14,191	8,650	3,573	15,922	8,974	5,649	2,168
555	26,669	14,454	8,810	3,548	16,255	9,141	5,754	2,158
556	27,164	14,757	8,954	3,855	16,558	9,333	5,848	2,344
557	27,669	15,031	9,099	3,917	16,866	9,506	5,943	2,382
558	28,184	15,382	9,247	3,999	17,179	9,727	6,039	2,427
559	28,774	15,704	9,419	4,227	17,539	9,931	6,152	2,564
560	29,376	16,032	9,594	4,305	17,906	10,139	6,266	2,612
561	29,992	16,368	9,772	4,385	18,281	10,351	6,383	2,661
562	30,620	16,672	9,954	4,169	18,664	10,544	6,501	2,529
563	31,189	16,982	10,116	4,217	19,011	10,740	6,607	2,570

Continuación de la tabla IX.

564	31,769	17,338	10,280	4,276	19,364	10,965	6,714	2,606
565	32,359	17,701	10,447	4,325	19,724	11,194	6,823	2,636
566	32,961	18,072	10,617	4,375	20,091	11,429	6,934	2,667
567	33,497	18,365	10,765	4,592	20,417	11,614	7,015	2,799
568	33,963	18,664	10,889	4,634	20,701	11,803	7,096	2,825
569	34,594	18,967	11,066	4,677	21,086	11,995	7,211	2,838
570	35,237	19,364	11,246	4,732	21,478	12,246	7,311	2,871
571	35,975	19,770	11,455	4,786	21,928	12,503	7,447	2,904
572	36,644	20,137	11,641	5,035	22,336	12,735	7,568	3,055
573	37,325	20,512	11,830	5,093	22,751	12,972	7,691	3,090
574	37,757	20,845	11,940	5,140	23,014	13,183	7,780	3,141
575	38,282	21,184	12,078	5,176	23,335	13,397	7,870	3,162
576	38,815	21,528	12,218	5,212	23,659	13,614	7,980	3,184
577	39,355	21,878	12,359	5,623	23,988	13,836	8,072	3,436
578	39,994	22,233	12,531	5,808	24,378	14,060	8,185	3,548
579	40,832	22,646	12,764	6,039	24,889	14,322	8,356	3,690
580	41,783	23,174	13,032	6,039	25,468	14,655	8,531	3,690
581	42,658	23,714	13,274	5,970	26,002	14,997	8,690	3,639
582	43,652	24,266	13,552	5,957	26,607	15,346	8,872	3,631
583	44,566	24,889	13,804	6,546	27,164	15,740	9,036	3,990
584	45,604	25,410	16,032	6,668	27,797	16,069	10,495	4,064
585	46,345	26,002	16,255	6,808	28,249	16,444	10,641	4,150
586	47,315	26,485	16,558	6,918	28,774	16,749	10,839	4,217
587	48,195	27,040	16,827	7,047	29,309	17,100	11,015	4,295
588	48,978	27,606	17,061	7,178	29,785	17,458	11,169	4,355
589	49,888	28,249	17,338	7,328	30,339	17,865	11,350	4,446
590	50,816	28,774	17,620	7,447	30,903	18,197	11,535	4,519
591	51,523	29,376	17,824	7,586	31,333	18,578	11,668	4,603
592	52,481	29,923	18,113	7,709	31,769	18,923	11,858	4,677
593	53,703	30,479	18,493	7,834	32,509	19,275	12,106	4,753
594	54,828	31,117	18,836	7,980	33,189	19,679	12,331	4,842
595	55,590	31,623	19,055	8,091	33,651	19,999	12,474	4,909
596	56,105	32,063	19,187	8,892	33,963	20,277	12,560	5,395
597	56,364	32,434	19,231	8,472	34,119	20,512	12,589	5,176
598	56,754	32,810	19,320	8,770	34,356	20,749	12,647	5,358
599	57,677	33,266	19,588	8,511	34,914	21,038	12,823	5,200

Continuación de la tabla IX.

600	58,614	33,884	19,861	8,831	35,481	21,429	13,002	5,395
605	62,087	35,975	20,797	9,183	37,584	22,751	13,552	5,572
610	65,163	38,019	21,577	9,705	39,446	24,044	14,028	5,888
615	68,865	40,087	22,542	10,116	41,687	25,351	14,655	6,166
620	71,614	41,687	23,174	10,399	43,351	26,363	15,136	6,339
625	73,621	43,053	27,925	10,093	43,551	27,353	17,620	6,124
630	74,302	43,351	29,444	10,328	43,954	27,542	18,793	6,266
635	75,162	44,055	24,946	10,691	44,259	27,990	16,255	6,531
640	74,989	44,055	25,177	11,588	44,157	27,990	16,444	7,112
645	74,302	43,551	29,376	11,324	43,752	27,542	19,099	6,934
650	71,450	42,560	25,177	10,940	42,073	26,915	16,368	6,668
655	69,502	41,400	24,210	11,066	40,926	26,062	15,704	6,745
660	66,988	40,087	23,067	10,447	39,446	25,235	14,962	6,353
665	65,917	39,719	22,439	10,471	38,815	24,774	14,555	6,368
670	68,549	41,305	23,067	11,015	41,591	25,763	14,997	6,714
675	74,302	44,875	24,378	12,106	45,082	27,990	15,776	7,345
680	79,433	47,534	25,763	12,794	48,195	29,309	16,672	7,762
685	81,846	49,091	26,242	13,305	49,659	30,269	16,943	8,128
690	83,560	49,888	26,485	13,366	49,888	30,761	17,100	8,091
695	84,918	50,816	26,853	13,459	50,699	31,333	17,418	8,147
700	84,333	50,582	27,861	13,243	50,350	31,189	18,072	8,035

Fuente: práctica experimental de la evaluación del indicador ácido-base natural (LAFIQ).

Tabla X. **Cálculo del deterioro térmico de la pasta deshidratada en términos de la absorbancia y transmitancia promedio del extracto usado como indicador ácido-base**

Longitud de onda (nm)	pHo3 3h		pHo4 3h		pHo3 6h		pHo4 6h	
	ΔA	ΔTr	ΔA	ΔTr	ΔA	ΔTr	ΔA	ΔTr
200	0,078	0,836	0,1	0,794	0,14	0,724	0,154	0,701
205	0,293	0,509	0,153	0,703	0,134	0,735	0,113	0,771

Continuación de la tabla X.

210	0,297	0,505	0,176	0,667	0,184	0,655	0,110	0,776
215	0,22	0,603	0,154	0,701	0,154	0,701	0,143	0,719
220	0,21	0,617	0,153	0,703	0,109	0,778	0,211	0,615
225	0,2	0,631	0,161	0,690	0,14	0,724	0,175	0,668
230	0,224	0,597	0,161	0,690	0,14	0,724	0,121	0,757
235	0,224	0,597	0,161	0,690	0,123	0,753	0,172	0,673
240	0,222	0,600	0,210	0,617	0,185	0,653	0,173	0,671
245	0,221	0,601	0,211	0,615	0,205	0,624	0,189	0,647
250	0,223	0,598	0,209	0,618	0,204	0,625	0,177	0,665
255	0,176	0,667	0,165	0,684	0,221	0,601	0,176	0,667
260	0,22	0,603	0,18	0,661	0,164	0,685	0,206	0,622
265	0,211	0,615	0,134	0,735	0,203	0,627	0,206	0,622
270	0,193	0,641	0,154	0,701	0,201	0,630	0,226	0,594
275	0,122	0,755	0,234	0,583	0,203	0,627	0,212	0,614
280	0,223	0,598	0,134	0,735	0,212	0,614	0,202	0,628
285	0,220	0,603	0,165	0,684	0,203	0,627	0,22	0,603
290	0,223	0,598	0,16	0,692	0,209	0,618	0,204	0,625
295	0,221	0,601	0,204	0,625	0,219	0,604	0,2112	0,615
300	0,223	0,598	0,154	0,701	0,204	0,625	0,222	0,600
305	0,221	0,601	0,22	0,603	0,212	0,614	0,231	0,587
310	0,223	0,598	0,205	0,624	0,214	0,611	0,231	0,587
315	0,225	0,596	0,105	0,785	0,207	0,621	0,224	0,597
320	0,222	0,600	0,181	0,659	0,208	0,619	0,231	0,587
325	0,225	0,596	0,182	0,658	0,221	0,601	0,224	0,597
330	0,221	0,601	0,112	0,773	0,194	0,640	0,205	0,624
335	0,23	0,589	0,112	0,773	0,167	0,681	0,212	0,614
340	0,23	0,589	0,112	0,773	0,169	0,678	0,225	0,596
345	0,23	0,589	0,23	0,589	0,169	0,678	0,232	0,586
350	0,225	0,596	0,118	0,762	0,211	0,615	0,237	0,579
355	0,224	0,597	0,218	0,605	0,179	0,662	0,212	0,614
360	0,220	0,603	0,115	0,767	0,196	0,637	0,208	0,619
365	0,225	0,596	0,118	0,762	0,202	0,628	0,209	0,618
370	0,221	0,601	0,202	0,628	0,211	0,615	0,211	0,615
375	0,222	0,600	0,228	0,592	0,179	0,662	0,211	0,615
380	0,221	0,601	0,132	0,738	0,213	0,612	0,202	0,628
385	0,222	0,600	0,18	0,661	0,204	0,625	0,234	0,583

Continuación de la tabla X.

390	0,220	0,603	0,221	0,601	0,213	0,612	0,203	0,627
395	0,221	0,601	0,231	0,587	0,202	0,628	0,192	0,643
400	0,223	0,598	0,176	0,667	0,204	0,625	0,177	0,665
405	0,221	0,601	0,176	0,667	0,182	0,658	0,189	0,647
410	0,220	0,603	0,231	0,587	0,182	0,658	0,168	0,679
415	0,217	0,607	0,230	0,589	0,204	0,625	0,188	0,649
420	0,216	0,608	0,231	0,587	0,199	0,632	0,173	0,671
425	0,217	0,607	0,231	0,587	0,205	0,624	0,205	0,624
430	0,22	0,603	0,229	0,590	0,21	0,617	0,156	0,698
435	0,209	0,618	0,23	0,589	0,195	0,638	0,206	0,622
440	0,221	0,601	0,229	0,590	0,197	0,635	0,206	0,622
445	0,222	0,600	0,228	0,592	0,185	0,653	0,209	0,618
450	0,220	0,603	0,229	0,590	0,176	0,667	0,214	0,611
455	0,221	0,601	0,226	0,594	0,173	0,671	0,213	0,612
460	0,212	0,614	0,22	0,603	0,179	0,662	0,212	0,614
465	0,213	0,612	0,222	0,600	0,189	0,647	0,215	0,610
470	0,212	0,614	0,227	0,593	0,182	0,658	0,214	0,611
475	0,226	0,594	0,221	0,601	0,181	0,659	0,211	0,615
480	0,224	0,597	0,224	0,597	0,18	0,661	0,212	0,614
485	0,225	0,596	0,227	0,593	0,18	0,661	0,213	0,612
490	0,226	0,594	0,228	0,592	0,181	0,659	0,211	0,615
495	0,226	0,594	0,226	0,594	0,183	0,656	0,210	0,617
500	0,209	0,618	0,215	0,610	0,180	0,661	0,212	0,614
501	0,226	0,594	0,205	0,624	0,184	0,655	0,211	0,615
502	0,211	0,615	0,221	0,601	0,176	0,667	0,213	0,612
503	0,226	0,594	0,222	0,600	0,178	0,664	0,209	0,618
504	0,216	0,608	0,225	0,596	0,174	0,670	0,213	0,612
505	0,226	0,594	0,209	0,618	0,184	0,655	0,210	0,617
506	0,220	0,603	0,225	0,596	0,182	0,658	0,213	0,612
507	0,226	0,594	0,203	0,627	0,184	0,655	0,211	0,615
508	0,219	0,604	0,225	0,596	0,181	0,659	0,214	0,611
509	0,226	0,594	0,204	0,625	0,184	0,655	0,212	0,614
510	0,216	0,608	0,225	0,596	0,182	0,658	0,214	0,611
511	0,210	0,617	0,225	0,596	0,182	0,658	0,215	0,610
512	0,226	0,594	0,225	0,596	0,180	0,661	0,212	0,614
513	0,206	0,622	0,222	0,600	0,180	0,661	0,215	0,610

Continuación de la tabla X.

514	0,226	0,594	0,215	0,610	0,181	0,659	0,213	0,612
515	0,211	0,615	0,203	0,627	0,182	0,658	0,212	0,614
516	0,206	0,622	0,223	0,598	0,180	0,661	0,215	0,610
517	0,226	0,594	0,203	0,627	0,176	0,667	0,210	0,617
518	0,226	0,594	0,213	0,612	0,172	0,673	0,213	0,612
519	0,226	0,594	0,205	0,624	0,174	0,670	0,212	0,614
520	0,216	0,608	0,209	0,618	0,164	0,685	0,209	0,618
521	0,223	0,598	0,221	0,601	0,184	0,655	0,208	0,619
522	0,220	0,603	0,223	0,598	0,192	0,643	0,213	0,612
523	0,227	0,593	0,223	0,598	0,194	0,640	0,213	0,612
524	0,226	0,594	0,213	0,612	0,183	0,656	0,214	0,611
525	0,226	0,594	0,208	0,619	0,182	0,658	0,210	0,617
526	0,215	0,610	0,220	0,603	0,184	0,655	0,209	0,618
527	0,213	0,612	0,220	0,603	0,182	0,658	0,211	0,615
528	0,212	0,614	0,221	0,601	0,184	0,655	0,215	0,610
529	0,212	0,614	0,223	0,598	0,180	0,661	0,214	0,611
530	0,215	0,610	0,221	0,601	0,184	0,655	0,214	0,611
531	0,211	0,615	0,220	0,603	0,182	0,658	0,214	0,611
532	0,215	0,610	0,223	0,598	0,185	0,653	0,214	0,611
533	0,213	0,612	0,220	0,603	0,184	0,655	0,216	0,608
534	0,213	0,612	0,221	0,601	0,185	0,653	0,216	0,608
535	0,214	0,611	0,222	0,600	0,183	0,656	0,214	0,611
536	0,215	0,610	0,220	0,603	0,185	0,653	0,216	0,608
537	0,215	0,610	0,221	0,601	0,180	0,661	0,216	0,608
538	0,214	0,611	0,221	0,601	0,175	0,668	0,217	0,607
539	0,215	0,610	0,212	0,614	0,182	0,658	0,215	0,610
540	0,216	0,608	0,220	0,603	0,184	0,655	0,216	0,608
541	0,215	0,610	0,221	0,601	0,185	0,653	0,218	0,605
542	0,214	0,611	0,221	0,601	0,184	0,655	0,218	0,605
543	0,215	0,610	0,220	0,603	0,182	0,658	0,213	0,612
544	0,212	0,614	0,221	0,601	0,184	0,655	0,218	0,605
545	0,212	0,614	0,220	0,603	0,184	0,655	0,213	0,612
546	0,210	0,617	0,219	0,604	0,182	0,658	0,218	0,605
547	0,215	0,610	0,218	0,605	0,183	0,656	0,215	0,610
548	0,212	0,614	0,221	0,601	0,180	0,661	0,217	0,607
549	0,213	0,612	0,220	0,603	0,183	0,656	0,216	0,608

Continuación de la tabla X.

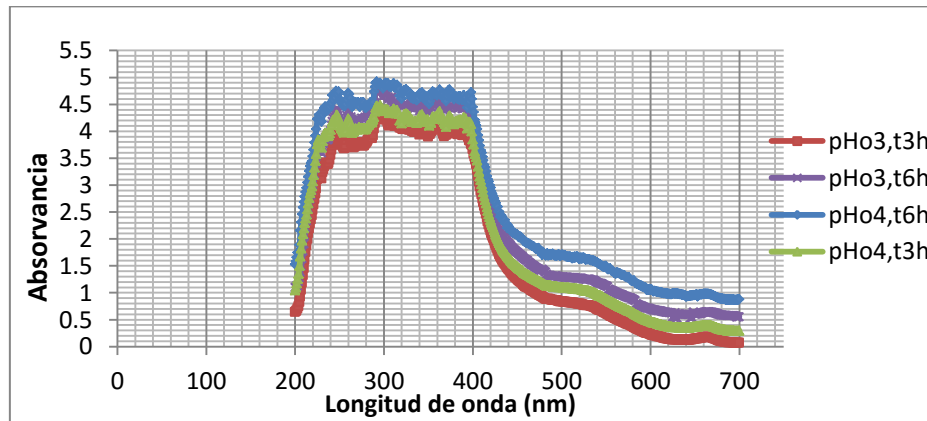
550	0,215	0,610	0,221	0,601	0,182	0,658	0,217	0,607
551	0,213	0,612	0,221	0,601	0,183	0,656	0,218	0,605
552	0,215	0,610	0,199	0,632	0,180	0,661	0,214	0,611
553	0,215	0,610	0,195	0,638	0,183	0,656	0,217	0,607
554	0,211	0,615	0,194	0,640	0,182	0,658	0,217	0,607
555	0,215	0,610	0,195	0,638	0,185	0,653	0,215	0,610
556	0,215	0,610	0,198	0,634	0,184	0,655	0,217	0,607
557	0,215	0,610	0,199	0,632	0,185	0,653	0,216	0,608
558	0,213	0,612	0,194	0,640	0,183	0,656	0,215	0,610
559	0,215	0,610	0,196	0,637	0,185	0,653	0,217	0,607
560	0,212	0,614	0,197	0,635	0,184	0,655	0,214	0,611
561	0,215	0,610	0,199	0,632	0,183	0,656	0,213	0,612
562	0,216	0,608	0,195	0,638	0,185	0,653	0,217	0,607
563	0,215	0,610	0,199	0,632	0,182	0,658	0,215	0,610
564	0,211	0,615	0,198	0,634	0,184	0,655	0,216	0,608
565	0,212	0,614	0,197	0,635	0,185	0,653	0,215	0,610
566	0,215	0,610	0,198	0,634	0,183	0,656	0,214	0,611
567	0,214	0,611	0,199	0,632	0,186	0,652	0,215	0,610
568	0,215	0,610	0,194	0,640	0,180	0,661	0,215	0,610
569	0,213	0,612	0,195	0,638	0,185	0,653	0,218	0,605
570	0,215	0,610	0,196	0,637	0,187	0,650	0,217	0,607
571	0,212	0,614	0,197	0,635	0,186	0,652	0,219	0,604
572	0,215	0,610	0,199	0,632	0,187	0,650	0,217	0,607
573	0,216	0,608	0,197	0,635	0,185	0,653	0,214	0,611
574	0,213	0,612	0,198	0,634	0,186	0,652	0,215	0,610
575	0,214	0,611	0,196	0,637	0,187	0,650	0,213	0,612
576	0,215	0,610	0,199	0,632	0,185	0,653	0,214	0,611
577	0,213	0,612	0,197	0,635	0,180	0,661	0,212	0,614
578	0,214	0,611	0,199	0,632	0,185	0,653	0,210	0,617
579	0,213	0,612	0,198	0,634	0,183	0,656	0,216	0,608
580	0,215	0,610	0,197	0,635	0,184	0,655	0,214	0,611
581	0,212	0,614	0,198	0,634	0,182	0,658	0,215	0,610
582	0,211	0,615	0,199	0,632	0,174	0,670	0,215	0,610
583	0,215	0,610	0,198	0,634	0,182	0,658	0,214	0,611
584	0,210	0,617	0,197	0,635	0,184	0,655	0,215	0,610
585	0,215	0,610	0,199	0,632	0,180	0,661	0,213	0,612

Continuación de la tabla X.

586	0,215	0,610	0,189	0,647	0,184	0,655	0,210	0,617
587	0,216	0,608	0,199	0,632	0,182	0,658	0,215	0,610
588	0,213	0,612	0,189	0,647	0,180	0,661	0,217	0,607
589	0,216	0,608	0,199	0,632	0,174	0,670	0,212	0,614
590	0,212	0,614	0,179	0,662	0,184	0,655	0,217	0,607
591	0,216	0,608	0,189	0,647	0,185	0,653	0,213	0,612
592	0,218	0,605	0,190	0,646	0,184	0,655	0,210	0,617
593	0,211	0,615	0,195	0,638	0,180	0,661	0,213	0,612
594	0,214	0,611	0,198	0,634	0,184	0,655	0,214	0,611
595	0,218	0,605	0,190	0,646	0,183	0,656	0,217	0,607
596	0,218	0,605	0,199	0,632	0,184	0,655	0,210	0,617
597	0,216	0,608	0,193	0,641	0,185	0,653	0,214	0,611
598	0,218	0,605	0,199	0,632	0,184	0,655	0,210	0,617
599	0,218	0,605	0,195	0,638	0,180	0,661	0,214	0,611
600	0,214	0,611	0,199	0,632	0,184	0,655	0,212	0,614
605	0,218	0,605	0,188	0,649	0,186	0,652	0,217	0,607
610	0,210	0,617	0,187	0,650	0,187	0,650	0,213	0,612
615	0,213	0,612	0,199	0,632	0,187	0,650	0,215	0,610
620	0,214	0,611	0,199	0,632	0,185	0,653	0,210	0,617
625	0,228	0,592	0,197	0,635	0,2	0,631	0,217	0,607
630	0,220	0,603	0,193	0,641	0,195	0,638	0,217	0,607
635	0,23	0,589	0,190	0,646	0,186	0,652	0,213	0,612
640	0,232	0,586	0,197	0,635	0,185	0,653	0,212	0,614
645	0,23	0,589	0,192	0,643	0,187	0,650	0,213	0,612
650	0,234	0,583	0,199	0,632	0,187	0,650	0,215	0,610
655	0,23	0,589	0,201	0,630	0,188	0,649	0,210	0,617
660	0,231	0,587	0,201	0,630	0,182	0,658	0,216	0,608
665	0,232	0,586	0,205	0,624	0,188	0,649	0,211	0,615
670	0,217	0,607	0,203	0,627	0,182	0,658	0,215	0,610
675	0,213	0,612	0,202	0,628	0,189	0,647	0,217	0,607
680	0,217	0,607	0,21	0,617	0,181	0,659	0,217	0,607
685	0,218	0,605	0,210	0,617	0,19	0,646	0,214	0,611
690	0,220	0,603	0,212	0,614	0,193	0,641	0,211	0,615
695	0,224	0,597	0,214	0,611	0,183	0,656	0,218	0,605
700	0,224	0,597	0,21	0,617	0,188	0,649	0,217	0,607

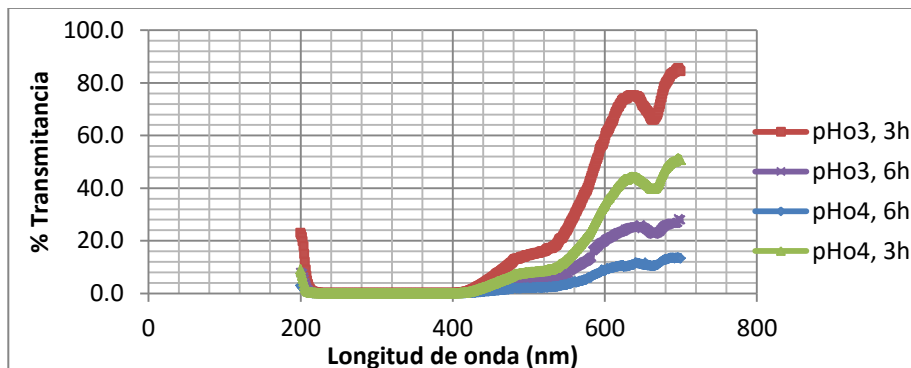
Fuente: elaboración propia, con datos calculados, tabla VIII y IX.

Figura 3. Promedio de espectros de absorbancia del pigmento antocianico de la cáscara de rábano rojo (*Raphanus sativus* var) en función de la longitud de onda en la región de 200-700 nm



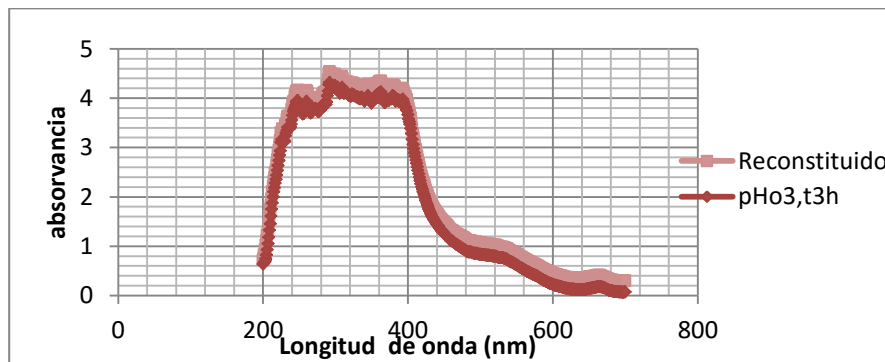
Fuente: elaboración propia, con datos calculados de la tabla VIII.

Figura 4. Promedio del porcentaje de transmitancia del pigmento antocianico de la cáscara de rábano rojo (*Raphanus sativus* var) en función de la longitud de onda en la región de 200-700 nm



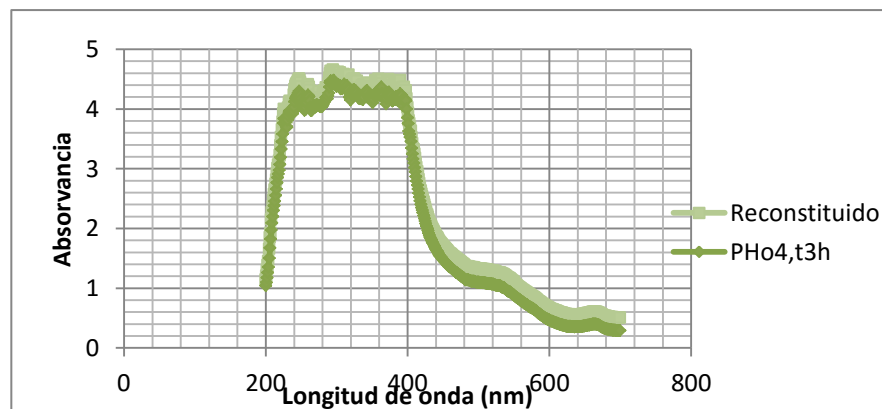
Fuente: elaboración propia, con datos calculados de la tabla IX.

Figura 5. **Comparación de los espectros de absorbancia del indicador ácido-base natural líquido y en pasta deshidratada reconstituida, primer tratamiento, pH 3 inicial del extracto a 3 horas de extracción**



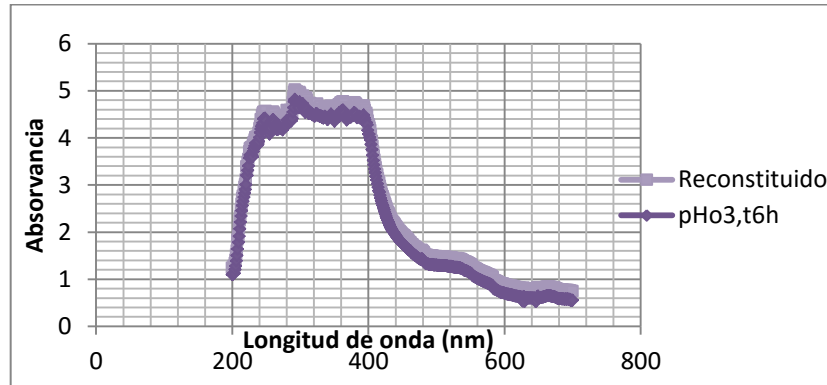
Fuente: elaboración propia, con datos calculados de las tablas VIII y X.

Figura 6. **Comparación de los espectros de absorbancia del indicador ácido-base natural líquido y en pasta deshidratada reconstituida, segundo tratamiento, pH 4 inicial del extracto a 3 horas de extracción**



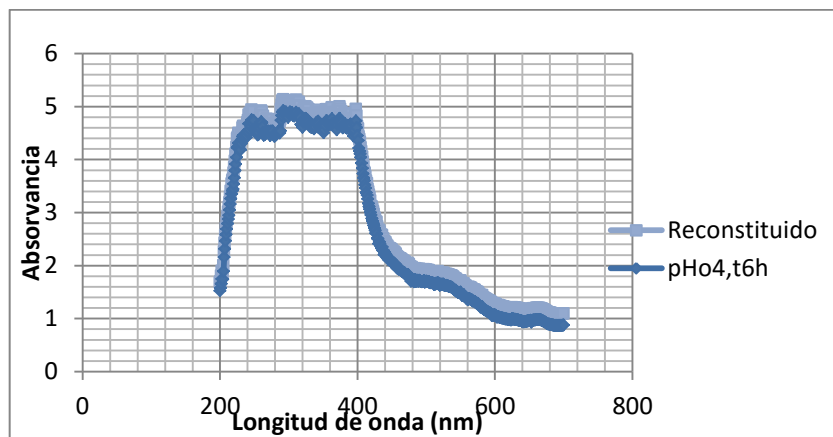
Fuente: elaboración propia, con datos calculados de las tablas VIII y X.

Figura 7. **Comparación de los espectros de absorbancia del indicador ácido-base natural líquido y en pasta deshidratada reconstituida, tercer tratamiento, pH 3 inicial del extracto a 6 horas de extracción**



Fuente: elaboración propia, con datos calculados de las tablas VIII y X.

Figura 8. **Comparación de los espectros de absorbancia del indicador ácido-base natural líquido y en pasta deshidratada reconstituida, cuarto tratamiento, pH 4 inicial del extracto a 6 horas de extracción**



Fuente: elaboración propia, con datos calculados de las tablas VIII y X.

Tabla XI. **Coefficientes de extinción molares según tipo de antocianina y sus respectivos máximos de absorción para determinar el total de antocianinas presentes en 75 g de muestra**

Tipo de antocianina	PM (g/mol)	Absorción máxima (nm)	E _{max} (L/cm*mg)	Absorbancia promedio±1nm			
				pHo3 3h	pHo4 3h	pHo3 6h	pHo4 6h
cy-3-Ga	502,5	535	4,49E-04	0,745	1,014	1,237	1,601
cy-3-Ar	472,5	538	4,44E-04	0,725	0,993	1,22	1,583
cy-3,5Gl	664,5	535	1,25E-04	0,745	1,014	1,237	1,601
Peonidina	354,5	532	4,08E-04	0,76	1,031	1,249	1,615
Pn-3-Ga	516,5	532	4,84E-04	0,76	1,031	1,249	1,615
Pn-3-Ar	486,5	532	4,61E-04	0,76	1,031	1,249	1,615

Fuente: elaboración propia, con datos calculados de la tabla VIII.

Tabla XII. **Cuantificación promedio del pigmento antociánico mayoritario presentes en la cáscara del rábano rojo (*Raphanus sativus* var)**

Tipo de antocianina	pHo3 3h	pHo4 3h	pHo3 6h	pHo4 6h
	Mg promedio	Mg promedio	Mg promedio	Mg promedio
cy-3-Ga	3,302	4,494	5,483	7,096
cy-3-Ar	3,456	4,733	5,815	7,546
cy-3,5Gl	8,969	12,208	14,892	19,275
Peonidina	5,255	7,128	8,635	11,166
Pn-3-Ga	3,040	4,124	4,996	6,460
Pn-3-Ar	3,389	4,597	5,569	7,201

Fuente: elaboración propia, con datos calculados de la tabla XI.

Tabla XIII. **Relación de distancia de la mancha y del solvente recorrido en la cromatoplaque de sílica gel 60F₂₅₄ en el análisis por cromatografía en capa fina**

Variable	Punto 1-7	color	Rf1	Rf2	Rf 3	Rf Ácido clorogénico	Rf Rutina	Rf Quercitina
pHo3 3h	3	+	0,467	0,456	0,489	0,989	0,978	0,989
	5	+	0,978	0,967	0,989			
pHo4 3h	3	+	1,000	0,971	0,986	0,986	0,943	0,857
pHo3 6h	2	+	0,314	0,371	0,414	1,000	0,971	0,957
	5	+	0,786	0,800	0,814			
	6	+	0,886	0,886	0,871			
	7	+	0,971	0,986	0,971			
pHo4 6h	2	+	0,586	0,571	0,643	0,957	0,986	0,900
	4	+	0,829	0,857	0,814			
	5	+	0,929	0,914	0,929			

Fuente: práctica experimental de la evaluación del indicador ácido-base natural (LIPRONAT).

Tabla XIV. **Relación de distancias de la mancha y estándares recorridos en el análisis cromatográfico por capa fina**

Variable	Punto 1-7	Ácido clorogénico			Rutina			Quercitina		
		Rx1	Rx2	Rx3	Rx1	Rx2	Rx3	Rx1	Rx2	Rx3
pHo3 3h	3	0,47	0,46	0,49	0,48	0,47	0,50	-	-	-
	5	0,98	0,97	0,99	-	-	-	-	-	-
pHo4 3h	3	1,00	0,97	0,99	-	-	-	-	-	-
pHo3 6h	2	0,31	0,37	0,41	0,32	0,38	0,43	-	-	-
	5	0,79	0,80	0,81	0,81	0,82	0,84	-	-	-
	6	0,89	0,89	0,87	-	-	-	0,93	0,93	0,91
	7	0,97	0,99	0,97	-	-	-	-	-	-
pHo4 6h	2	0,61	0,60	0,67	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	0,92	0,95	0,90
	5	0,97	0,96	0,97	-	-	-	-	-	-

Fuente: elaboración propia, con datos calculado de la tabla XIII.

Tabla XV. **Análisis cromatográfico en capa fina para la detección de estándares de metabolitos secundarios del tipo antocianina**

Variables	Estándares		
	Ácido Clorogénico	Rutina	Quercitina
pHo3, 3h	+	-	-
pHo4, 3h	+	-	-
pHo3, 6h	+	-	-
pHo4, 6h	+	-	-

Fuente: elaboración propia, con datos calculados, tabla XIII y XIV.

Tabla XVI. **Cálculo de datos para curvas de valoración ácido fuerte-base fuerte y método primera derivada variando cantidad de extracto usado como indicador natural ácido-base; variable pHo3, t=3h**

0,5mL			1mL			1,5mL		
mL NaOH	pH	$\frac{\Delta pH}{\Delta mL NaOH}$	mL NaOH	pH	$\frac{\Delta pH}{\Delta mL NaOH}$	mL NaOH	pH	$\frac{\Delta pH}{\Delta mL NaOH}$
0	1,1	0	0	1,1	0	0	1,1	0
2	1,2	0,05	2	1,2	0,05	2	1,2	0,05
4	1,2	0	4	1,3	0,05	4	1,3	0,05
6	1,3	0,05	6	1,4	0,05	6	1,4	0,05
8	1,4	0,05	8	1,5	0,05	8	1,5	0,05
10	1,5	0,05	10	1,6	0,05	10	1,6	0,05
12	1,6	0,05	12	1,7	0,05	12	1,7	0,05
14	1,7	0,05	14	1,8	0,05	14	1,8	0,05
15	1,8	0,1	15	1,9	0,1	15	1,9	0,1
16	1,9	0,1	16	2	0,1	16	2	0,1
16,5	2	0,2	16,5	2,1	0,2	16,5	2,1	0,2
17	2,1	0,2	17	2,2	0,2	17	2,2	0,2
17,3	2,2	0,33	17,5	2,3	0,2	17,5	2,3	0,2
17,6	2,3	0,33	17,8	2,4	0,33	17,8	2,4	0,33
17,9	2,4	0,33	18,1	2,5	0,33	18,1	2,5	0,33
18,2	2,5	0,33	18,4	2,6	0,33	18,4	2,6	0,33

Continuación de la tabla XVI.

18,4	2,6	0,5	18,6	2,7	0,5	18,6	2,7	0,5
18,6	2,7	0,5	18,8	3,1	2	18,8	3,1	2
18,8	2,9	1	19	3,2	0,5	19	3,2	0,5
19	3,1	1	19,1	3,3	1	19,1	3,3	1
19,1	3,3	2	19,2	3,5	2	19,2	3,5	2
19,2	3,5	2	19,3	4,4	9	19,3	4,4	9
19,3	4,4	9	19,4	5,4	10	19,4	5,4	10
19,4	5,2	8	19,45	5,9	10	19,45	5,9	10
19,45	5,8	12	19,5	7,1	24	19,5	7,2	26
19,5	7,1	26	19,55	8,3	24	19,55	8,4	24
19,55	8,4	26	19,6	9,1	16	19,6	9,2	16
19,6	9	12	19,65	9,4	6	19,65	9,3	2
19,65	9,4	8	19,7	9,6	4	19,7	9,6	6
19,7	9,6	4	19,75	9,9	6	19,75	9,9	6
19,75	10	8	19,85	10,1	2	19,85	10,1	2
19,85	10,2	2	19,95	10,3	2	19,95	10,2	1
19,95	10,3	1	20,15	10,5	1	20,15	10,5	1,5
20,15	10,5	1	20,35	10,6	0,5	20,35	10,6	0,5
20,35	10,6	0,5	20,55	10,7	0,5	20,55	10,7	0,5
20,65	10,8	0,67	20,85	10,9	0,67	20,85	10,9	0,67
20,95	10,9	0,33	21,35	11,1	0,4	21,35	11,1	0,4
21,45	11	0,2	21,85	11,2	0,2	21,85	11,2	0,2
21,95	11,1	0,2	22,35	11,3	0,2	22,35	11,3	0,2
22,45	11,2	0,2	23,35	11,4	0,1	23,35	11,4	0,1
23,45	11,3	0,1	24,35	11,5	0,1	24,35	11,5	0,1
24,45	11,4	0,1	25,35	11,6	0,1	25,35	11,6	0,1
25,45	11,5	0,1	26,35	11,7	0,1	26,35	11,7	0,1
26,45	11,6	0,1	27,35	11,8	0,1	27,35	11,8	0,1
27,45	11,7	0,1	28,35	11,9	0,1	28,35	11,9	0,1
28,45	11,8	0,1	29,35	12	0,1	29,35	12	0,1
29,45	11,9	0,1	31,35	12,1	0,05	31,35	12,1	0,05
31,45	12	0,05	33,35	12,2	0,05	33,35	12,2	0,05
33,45	12,1	0,05	35,35	12,3	0,05	35,35	12,3	0,05
35,45	12,2	0,05	38,35	12,4	0,03	38,35	12,4	0,03
37,45	12,3	0,05	41,35	12,5	0,03	41,35	12,5	0,03

Fuente: práctica experimental de la evaluación del indicador ácido-base natural (LAFIQ y LQ1).

Tabla XVII. **Cálculo de datos para curvas de valoración base fuerte-ácido fuerte y método primera derivada variando cantidad de extracto usado como indicador natural ácido-base; variable pHo3 y t=3 h**

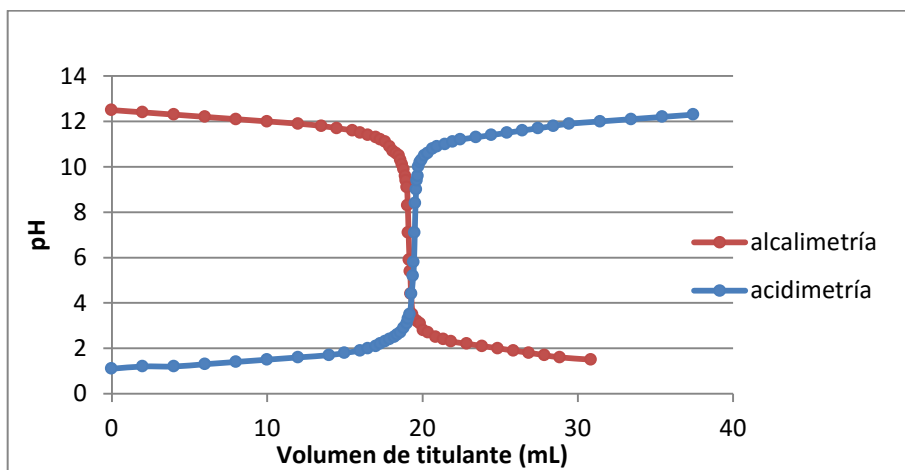
0,5mL			1mL			1,5mL		
mL HCl	pH	$\frac{\Delta pH}{\Delta mL HCl}$	mL HCl	pH	$\frac{\Delta pH}{\Delta mL HCl}$	mL HCl	pH	$\frac{\Delta pH}{\Delta mL HCl}$
0	12,5	0	0	12,5	0,00	0	12,4	0,00
2	12,4	0,05	2	12,4	0,05	2	12,3	0,05
4	12,3	0,05	4	12,3	0,05	4	12,1	0,10
6	12,2	0,05	6	12,2	0,05	6	12	0,05
8	12,1	0,05	8	12,1	0,05	8	11,8	0,10
10	12	0,05	10	12	0,05	10	11,7	0,05
12	11,9	0,05	12	11,9	0,05	12	11,6	0,05
14	11,8	0,05	14	11,8	0,05	14	11,5	0,05
15	11,7	0,1	15	11,7	0,10	15	11,4	0,10
16	11,6	0,1	16	11,6	0,10	16	11,3	0,10
16,5	11,5	0,2	16,6	11,5	0,17	16,5	11,2	0,20
17	11,4	0,2	17,1	11,4	0,20	17	11,1	0,20
17,5	11,3	0,2	17,6	11,3	0,20	17,3	11	0,33
17,8	11,2	0,33	17,9	11,2	0,33	17,6	10,9	0,33
18,1	11,1	0,33	18,2	11,1	0,33	17,9	10,8	0,33
18,4	10,9	0,67	18,5	10,9	0,67	18,2	10,7	0,33
18,6	10,7	1	18,7	10,7	1,00	18,4	10,5	1,00
18,8	10,6	0,5	18,9	10,6	0,50	18,6	10,4	0,50
19	10,5	0,5	19,1	10,5	0,50	18,8	10,2	1,00
19,1	10,3	2	19,2	10,2	3,00	19	10,1	0,50
19,2	10,1	2	19,3	10,1	1,00	19,1	9,9	2,00
19,3	9,9	2	19,4	9,9	2,00	19,2	9,5	4,00
19,4	9,6	3	19,5	9,6	3,00	19,3	9,4	1,00
19,45	9,4	4	19,55	9,4	4,00	19,35	9,3	2,00
19,5	9,1	6	19,6	9,2	4,00	19,4	8,2	22,00
19,55	8,3	16	19,65	8,2	20,00	19,45	7	24,00
19,6	7,1	24	19,7	7,2	20,00	19,5	6,3	14,00
19,65	5,9	24	19,77	6	17,14	19,55	5,3	20,00
19,7	5,4	10	19,82	5,4	12,00	19,6	4,4	18,00
19,75	4,4	20	19,87	4,5	18,00	19,65	3,5	18,00
19,85	3,5	9	20,02	3,5	6,67	19,7	3,3	4,00
19,95	3,3	2	20,12	3,3	2,00	19,9	3,1	1,00
20,15	3,2	0,5	20,32	3,2	0,50	20,1	2,9	1,00
20,35	3,1	0,5	20,52	3,1	0,50	20,3	2,7	1,00
20,55	2,7	2	20,72	2,7	2,00	20,5	2,6	0,50
20,85	2,6	0,33	21,02	2,6	0,33	20,8	2,5	0,33
21,35	2,5	0,2	21,52	2,5	0,20	21,1	2,4	0,33
21,85	2,4	0,2	22,02	2,4	0,20	21,6	2,3	0,20
22,35	2,3	0,2	22,52	2,3	0,20	22,1	2,2	0,20

Continuación de la tabla XVII.

23,35	2,2	0,1	23,52	2,2	0,10	22,6	2,1	0,20
24,35	2,1	0,1	24,52	2,1	0,10	23,6	2	0,10
25,35	2	0,1	25,52	2	0,10	24,6	1,9	0,10
26,35	1,9	0,1	26,52	1,9	0,10	25,6	1,8	0,10
27,35	1,8	0,1	27,52	1,8	0,10	26,6	1,7	0,10
28,35	1,7	0,1	28,52	1,7	0,10	27,6	1,6	0,10
29,35	1,6	0,1	29,52	1,6	0,10	28,6	1,5	0,10
31,35	1,5	0,05	31,52	1,5	0,05	0	12,4	0,00

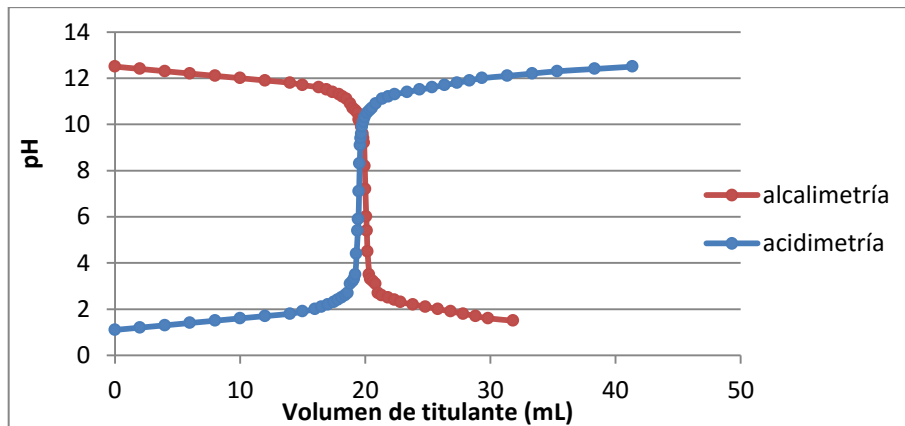
Fuente: práctica experimental de la evaluación del indicador ácido-base natural (LAFIQ y LQ1).

Figura 9. **Curva volumétrica ácido fuerte- base fuerte y base fuerte- ácido fuerte utilizando 0,5 mL del indicador natural ácido-base con variable de operación pHo 3 y t=3 h**



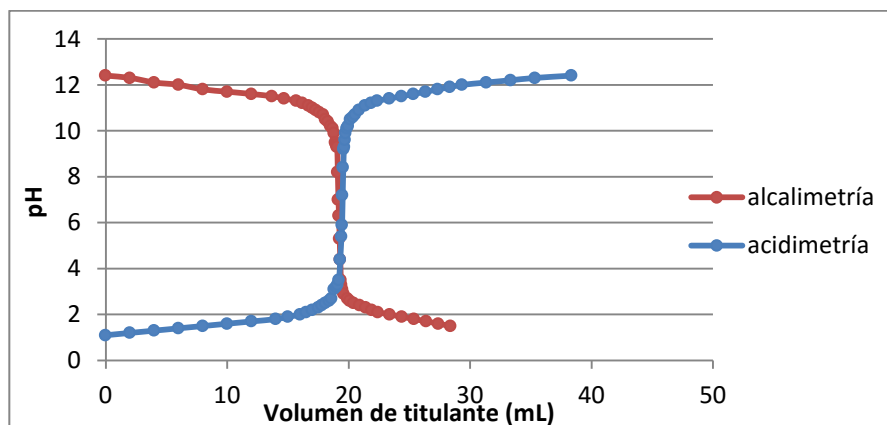
Fuente: elaboración propia, con datos calculados de las tablas XVI y XVII.

Figura 10. **Curva volumétrica ácido fuerte- base fuerte y base fuerte-ácido fuerte utilizando 1mL del indicador natural ácido-base con variable de operación pHo 3 y t=3 h**



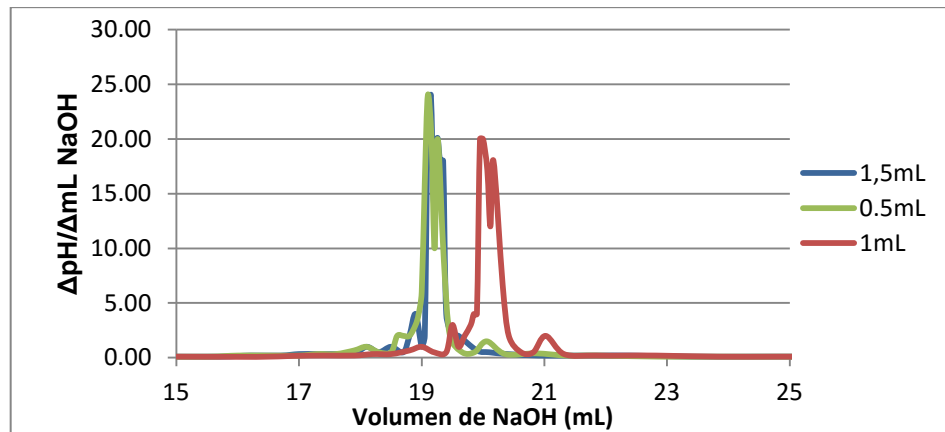
Fuente: elaboración propia, con datos calculados de las tablas XVI y XVII.

Figura 11. **Curva volumétrica ácido fuerte- base fuerte y base fuerte-ácido fuerte utilizando 1,5 mL del indicador natural ácido-base con variable de operación pHo 3 y t=3 h**



Fuente: elaboración propia, con datos calculados de las tablas XVI y XVII.

Figura 12. **Primera derivada de la curva volumétrica ácido fuerte- base fuerte utilizando diferentes volúmenes del indicador natural ácido-base con variables de operación pHo 3 y t= 3 h**



Fuente: elaboración propia, con datos calculados de las tablas XVI y XVII.

Tabla XVIII. **Cálculo de datos para curvas de valoración ácido fuerte-base fuerte y método primera derivada variando cantidad de extracto usado como indicador natural ácido-base; variable pHo4 y t=3 h**

0,5mL			1mL			1,5mL		
mL NaOH	pH	$\frac{\Delta pH}{\Delta mL NaOH}$	mL NaOH	pH	$\frac{\Delta pH}{\Delta mL NaOH}$	mL NaOH	pH	$\frac{\Delta pH}{\Delta mL NaOH}$
0,00	1,20	0,00	0,00	1,20	0,00	0	1,2	0
4,00	1,30	0,03	4,00	1,30	0,03	4	1,3	0,025
6,00	1,40	0,05	6,00	1,40	0,05	6	1,4	0,05
8,00	1,50	0,05	8,00	1,50	0,05	8	1,5	0,05
10,00	1,60	0,05	10,00	1,60	0,05	10	1,6	0,05
13,00	1,70	0,03	13,00	1,70	0,03	12	1,7	0,05
14,00	1,80	0,10	14,00	1,80	0,10	14	1,8	0,05
15,00	1,90	0,10	15,00	1,90	0,10	15	1,9	0,1
16,00	2,00	0,10	16,00	2,00	0,10	16	2	0,1
17,00	2,10	0,10	16,75	2,10	0,13	16,75	2,1	0,13

Continuación de la tabla XVIII.

17,50	2,20	0,20	17,25	2,20	0,20	17,5	2,2	0,13
18,00	2,30	0,20	17,75	2,30	0,20	18	2,3	0,20
18,30	2,40	0,33	18,05	2,40	0,33	18,3	2,4	0,33
18,50	2,50	0,50	18,35	2,50	0,33	18,6	2,5	0,33
18,70	2,60	0,50	18,55	2,60	0,50	18,8	2,6	0,5
18,90	2,70	0,50	18,75	2,70	0,50	19	2,7	0,5
19,10	2,90	1,00	18,95	2,90	1,00	19,2	2,9	1
19,30	3,10	1,00	19,15	3,10	1,00	19,4	3,1	1
19,40	3,30	2,00	19,25	3,30	2,00	19,5	3,3	2
19,50	3,50	2,00	19,35	3,50	2,00	19,6	3,5	2
19,60	4,40	9,00	19,45	4,40	9,00	19,7	4,4	9
19,70	5,20	8,00	19,55	5,20	8,00	19,8	5,2	8
19,75	5,80	12,00	19,60	5,80	12,00	19,85	5,8	12
19,80	7,00	24,00	19,65	7,10	26,00	19,9	7,2	28
19,85	8,30	26,00	19,70	8,40	26,00	19,95	8,4	24
19,90	8,90	12,00	19,75	9,00	12,00	20	9,1	14
19,95	9,40	10,00	19,80	9,40	8,00	20,05	9,4	6
20,00	9,60	4,00	19,85	9,60	4,00	20,1	9,6	4
20,05	10,00	8,00	19,90	10,00	8,00	20,15	10	8
20,15	10,20	2,00	20,00	10,20	2,00	20,25	10,2	2
20,45	10,50	1,00	20,30	10,50	1,00	20,55	10,5	1
20,65	10,60	0,50	20,50	10,60	0,50	20,75	10,6	0,5
20,95	10,80	0,67	20,80	10,80	0,67	21,05	10,8	0,67
21,25	10,90	0,33	21,30	10,90	0,20	21,55	10,9	0,2
22,25	11,10	0,20	22,30	11,10	0,20	22,55	11,1	0,2
22,75	11,20	0,20	22,80	11,20	0,20	23,05	11,2	0,2
23,75	11,30	0,10	23,80	11,30	0,10	24,05	11,3	0,1
24,75	11,40	0,10	24,80	11,40	0,10	25,05	11,4	0,1
25,75	11,50	0,10	25,80	11,50	0,10	26,05	11,5	0,1
26,75	11,60	0,10	26,80	11,60	0,10	27,05	11,6	0,1
27,75	11,70	0,10	27,80	11,70	0,10	28,05	11,7	0,1
29,75	11,90	0,10	29,80	11,90	0,10	30,05	11,9	0,1
31,75	12,00	0,05	31,80	12,00	0,05	32,05	12	0,05
33,75	12,10	0,05	33,80	12,10	0,05	34,05	12,1	0,05
35,75	12,20	0,05	35,80	12,20	0,05	36,05	12,2	0,05
36,75	12,20	0,00	37,80	12,30	0,05	38,05	12,3	0,05

Fuente: práctica experimental de la evaluación del indicador ácido-base natural (LAFIQ y LQ1).

Tabla XIX. **Cálculo de datos para curvas de valoración base fuerte-ácido fuerte y método primera derivada variando cantidad de extracto usado como indicador natural ácido-base; variable pH₀₄ y t=3 h**

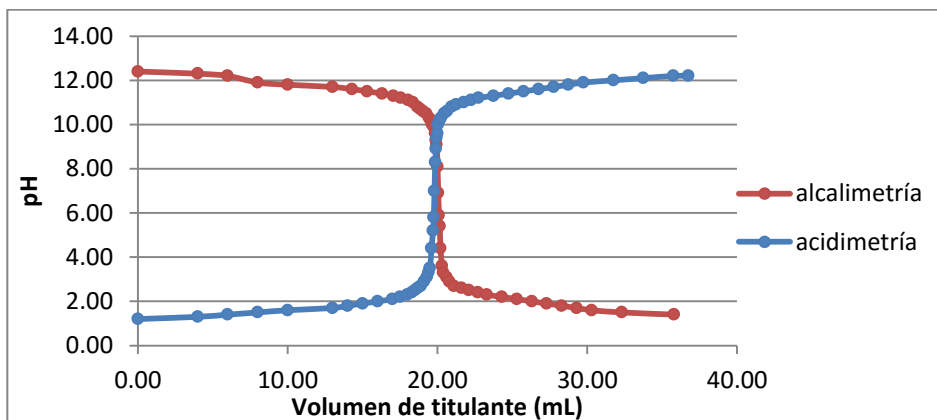
0,5mL			1mL			1,5mL		
mL HCl	pH	$\frac{\Delta pH}{\Delta mL HCl}$	mL HCl	pH	$\frac{\Delta pH}{\Delta mL HCl}$	mL HCl	pH	$\frac{\Delta pH}{\Delta mL HCl}$
0	12,4	0,00	0	12,4	0,00	0,00	12,20	0,00
4	12,2	0,02	4	12,2	0,05	4,00	12,20	0,00
6	12,1	0,05	6	12,1	0,05	6,00	12,10	0,05
8	12	0,15	8	12	0,05	8,00	12,00	0,05
10	11,9	0,05	10	11,9	0,05	10,00	11,90	0,05
12	11,8	0,03	12	11,8	0,05	13,00	11,80	0,03
14	11,7	0,10	14	11,7	0,05	14,00	11,70	0,10
15	11,6	0,10	15	11,6	0,10	15,00	11,60	0,10
16	11,5	0,10	16	11,5	0,10	16,00	11,50	0,10
16,75	11,4	0,13	16,75	11,4	0,13	17,00	11,40	0,10
17,5	11,3	0,20	17,5	11,3	0,13	17,50	11,30	0,20
18	11,2	0,20	18	11,2	0,20	18,00	11,20	0,20
18,3	11,1	0,33	18,3	11,1	0,33	18,30	11,10	0,33
18,6	11	0,67	18,6	11	0,33	18,50	11,00	0,50
18,8	10,9	0,50	18,8	10,9	0,50	18,70	10,90	0,50
19	10,8	0,50	19	10,8	0,50	18,90	10,80	0,50
19,2	10,6	0,50	19,2	10,6	1,00	19,10	10,60	1,00
19,4	10,4	1,00	19,4	10,4	1,00	19,30	10,50	0,50
19,5	10,3	1,00	19,5	10,3	1,00	19,40	10,30	2,00
19,6	10	2,00	19,6	10	3,00	19,50	10,20	1,00
19,7	9,9	1,00	19,7	9,9	1,00	19,60	10,00	2,00
19,8	9,7	3,00	19,8	9,7	2,00	19,70	9,60	4,00
19,85	9,4	6,00	19,85	9,4	6,00	19,75	9,40	4,00
19,9	9,1	4,00	19,9	9,1	6,00	19,80	9,10	6,00
19,95	8,2	20,00	19,95	8,2	18,00	19,85	8,20	18,00
20	7	24,00	20	7	24,00	19,90	7,10	22,00
20,05	6,3	20,00	20,05	6,3	14,00	19,95	6,10	20,00
20,1	5,2	10,00	20,1	5,2	22,00	20,00	5,20	18,00
20,15	4,4	20,00	20,15	4,4	16,00	20,05	4,40	16,00
20,25	3,5	8,00	20,25	3,5	9,00	20,15	3,50	9,00

Continuación de la tabla XIX.

20,35	3,3	3,00	20,35	3,3	2,00	20,25	3,40	1,00
20,55	3,1	1,00	20,55	3,1	1,00	20,45	3,10	1,50
20,75	2,9	1,00	20,75	2,9	1,00	20,65	2,80	1,50
21,05	2,7	0,67	21,05	2,7	0,67	20,95	2,70	0,33
21,55	2,6	0,20	21,55	2,6	0,20	21,25	2,60	0,33
22,15	2,5	0,20	22,15	2,5	0,17	21,85	2,50	0,17
22,75	2,4	0,17	22,75	2,4	0,17	22,35	2,40	0,20
23,25	2,3	0,17	23,25	2,3	0,20	22,85	2,30	0,20
24,25	2,2	0,10	24,25	2,2	0,10	23,85	2,20	0,10
25,25	2,1	0,10	25,25	2,1	0,10	24,85	2,10	0,10
26,25	2	0,10	26,25	2	0,10	25,85	2,00	0,10
27,25	1,9	0,10	27,25	1,9	0,10	26,85	1,90	0,10
28,25	1,8	0,10	28,25	1,8	0,10	27,85	1,80	0,10
29,25	1,7	0,10	29,25	1,7	0,10	28,85	1,70	0,10
30,25	1,6	0,10	30,25	1,6	0,10	29,85	1,60	0,10
32,25	1,5	0,05	32,25	1,5	0,05	31,85	1,50	0,05
35,25	1,4	0,03	35,25	1,4	0,03	34,85	1,40	0,03

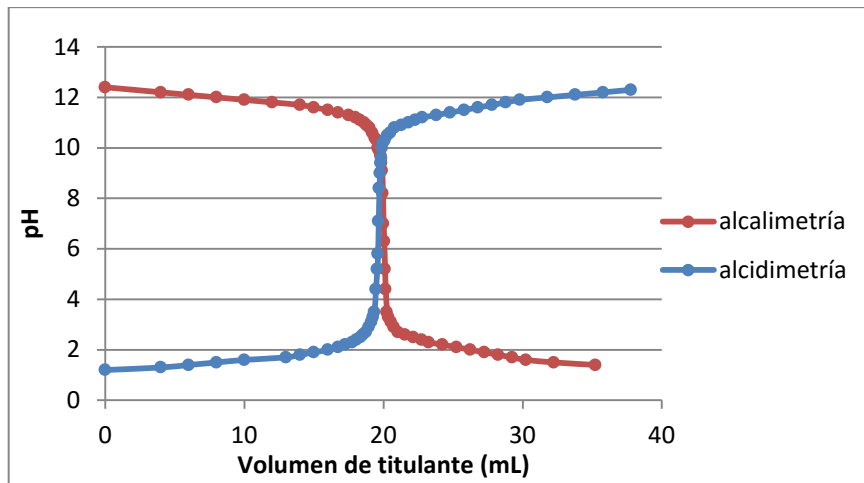
Fuente: práctica experimental de la evaluación del indicador ácido-base natural (LAFIQ y LQ1).

Figura 13. **Curva volumétrica ácido fuerte- base fuerte y base fuerte- ácido fuerte utilizando 0,5 mL del indicador natural ácido-base con variable de operación pHo 4 y t= 3 h**



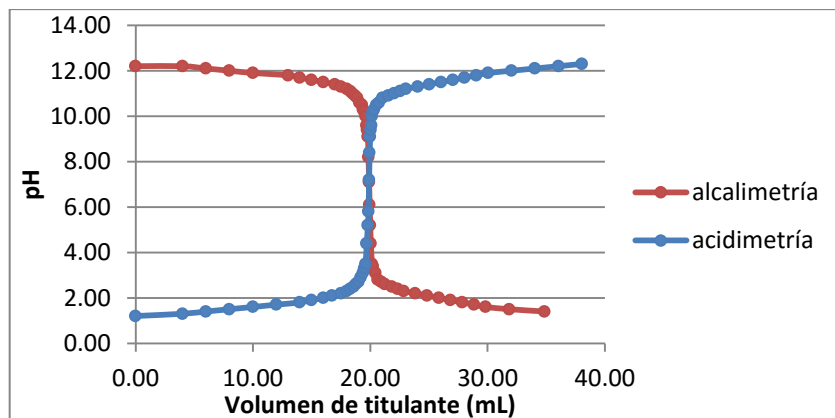
Fuente: elaboración propia, con datos calculados de las tablas XVIII y XIX.

Figura 14. **Curva volumétrica ácido fuerte- base fuerte y base fuerte- ácido fuerte utilizando 1 mL del indicador natural ácido-base con variable de operación pHo 4 y t=3 h**



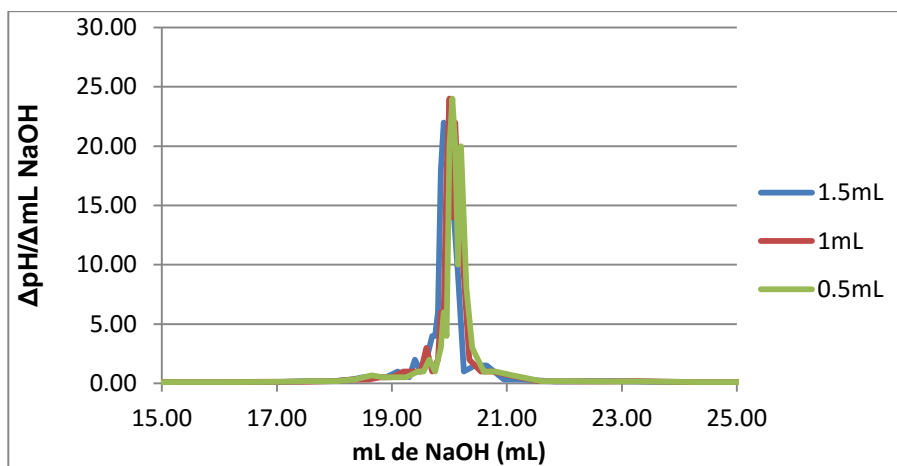
Fuente: elaboración propia, con datos calculados de las tablas XVIII y XIX.

Figura 15. **Curva volumétrica ácido fuerte- base fuerte y base fuerte- ácido fuerte utilizando 1,5 mL del indicador natural ácido-base con variable de operación pHo 4 y t=3 h**



Fuente: elaboración propia, con datos calculados de las tablas XVIII y XIX.

Figura 16. **Primera derivada de la curva volumétrica ácido fuerte- base fuerte utilizando diferentes volúmenes del indicador natural ácido-base con variable de operación pHo 4 y t=3h**



Fuente: elaboración propia, con datos calculados de las tablas XVIII y XIX.

Tabla XX. **Cálculo de datos para curvas de valoración ácido fuerte-base fuerte y método primera derivada variando cantidad de extracto usado como indicador natural ácido-base; variable de operación pHo3 y t=6h**

0,5mL			1mL			1,5mL		
mL NaOH	pH	$\frac{\Delta pH}{\Delta mL NaOH}$	mL NaOH	pH	$\frac{\Delta pH}{\Delta mL NaOH}$	mL NaOH	pH	$\frac{\Delta pH}{\Delta mL NaOH}$
0,00	1,20	0,00	0,00	1,20	0,00	0,00	1,20	0,00
2,00	1,30	0,05	2,00	1,30	0,05	2,00	1,30	0,05
6,00	1,40	0,03	6,00	1,40	0,03	6,00	1,40	0,03
10,00	1,60	0,05	10,00	1,60	0,05	10,00	1,60	0,05
12,00	1,70	0,05	12,00	1,70	0,05	12,00	1,70	0,05
14,00	1,80	0,05	14,00	1,80	0,05	14,00	1,80	0,05
15,00	1,90	0,10	15,00	1,90	0,10	15,00	1,90	0,10
16,00	2,00	0,10	16,00	2,00	0,10	16,00	2,00	0,10
17,00	2,10	0,10	17,00	2,10	0,10	17,00	2,10	0,10
18,00	2,30	0,20	18,00	2,30	0,20	18,10	2,30	0,20
18,30	2,40	0,33	18,30	2,40	0,33	18,40	2,40	0,33
18,50	2,50	0,50	18,50	2,50	0,50	18,60	2,50	0,50

Continuación de la tabla XX.

18,70	2,60	0,50	18,70	2,60	0,50	18,80	2,60	0,50
18,90	2,90	2,00	18,90	2,90	2,00	19,00	2,90	2,00
19,00	3,10	2,00	19,00	3,10	2,00	19,10	3,10	2,00
19,10	3,30	2,00	19,10	3,30	2,00	19,20	3,30	2,00
19,20	3,60	3,00	19,20	3,60	3,00	19,30	3,60	3,00
19,30	4,20	6,00	19,30	4,30	7,00	19,40	4,20	6,00
19,40	5,10	9,00	19,40	5,10	8,00	19,55	5,10	6,00
19,45	6,00	18,00	19,45	5,90	16,00	19,60	6,00	18,00
19,50	7,30	26,00	19,50	7,20	26,00	19,66	7,30	21,67
19,55	8,40	22,00	19,55	8,40	24,00	19,71	8,40	22,00
19,60	9,00	12,00	19,60	8,90	10,00	19,76	9,10	14,00
19,65	9,50	10,00	19,65	9,60	14,00	19,81	9,50	8,00
19,70	9,80	6,00	19,70	9,70	2,00	19,86	9,80	6,00
19,75	10,00	4,00	19,75	10,00	6,00	19,91	10,00	4,00
19,85	10,20	2,00	19,85	10,20	2,00	20,01	10,20	2,00
19,95	10,30	1,00	19,95	10,30	1,00	20,11	10,30	1,00
20,15	10,50	1,00	20,15	10,50	1,00	20,31	10,50	1,00
20,35	10,60	0,50	20,35	10,60	0,50	20,51	10,60	0,50
20,65	10,80	0,67	20,65	10,80	0,67	20,81	10,80	0,67
20,95	10,90	0,33	20,95	10,90	0,33	21,11	10,90	0,33
21,45	11,00	0,20	21,45	11,00	0,20	21,61	11,00	0,20
21,95	11,10	0,20	21,95	11,10	0,20	22,21	11,10	0,17
22,45	11,20	0,20	22,45	11,20	0,20	22,71	11,20	0,20
23,45	11,30	0,10	23,45	11,30	0,10	23,71	11,30	0,10
24,45	11,40	0,10	24,45	11,40	0,10	24,71	11,40	0,10
25,45	11,50	0,10	25,45	11,50	0,10	25,71	11,50	0,10
26,45	11,60	0,10	26,45	11,60	0,10	26,71	11,60	0,10
27,45	11,70	0,10	27,45	11,70	0,10	27,71	11,70	0,10
28,45	11,80	0,10	28,45	11,80	0,10	28,71	11,80	0,10
29,45	11,90	0,10	29,45	11,90	0,10	29,71	11,90	0,10
31,45	12,00	0,05	31,45	12,00	0,05	31,71	12,00	0,05
33,45	12,10	0,05	33,45	12,10	0,05	33,71	12,20	0,10
35,45	12,20	0,05	35,45	12,20	0,05	36,71	12,40	0,07
37,45	12,30	0,05	37,45	12,30	0,05	39,71	12,50	0,03

Fuente: práctica experimental de la evaluación del indicador ácido-base natural (LAFIQ y LQ1).

Tabla XXI. **Cálculo de datos para curvas de valoración base fuerte-ácido fuerte y método primera derivada variando cantidad de extracto usado como indicador natural ácido-base; variable pH₀₃ y t=6 h**

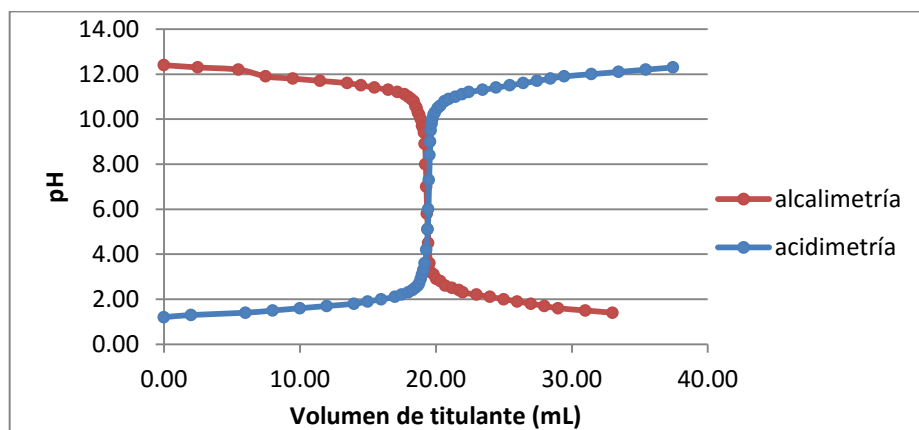
0,5mL			1mL			1,5mL		
mL HCl	pH	$\frac{\Delta pH}{\Delta mL HCl}$	mL HCl	pH	$\frac{\Delta pH}{\Delta mL HCl}$	mL HCl	pH	$\frac{\Delta pH}{\Delta mL HCl}$
0,00	12,40	0,00	0,00	12,50	0,00	0,00	12,30	0,00
2,50	12,30	0,04	2,00	12,40	0,05	2,00	12,20	0,05
5,50	12,20	0,03	6,00	12,20	0,05	6,00	12,10	0,02
7,50	11,90	0,15	8,00	12,00	0,10	8,00	12,00	0,05
9,50	11,80	0,05	10,00	11,90	0,05	10,00	11,90	0,05
11,50	11,70	0,05	12,00	11,80	0,05	12,00	11,80	0,05
13,50	11,60	0,05	14,00	11,70	0,05	14,00	11,70	0,05
14,50	11,50	0,10	15,00	11,60	0,10	15,00	11,60	0,10
15,50	11,40	0,10	16,00	11,50	0,10	16,00	11,50	0,10
16,50	11,30	0,10	17,00	11,40	0,10	17,00	11,40	0,10
17,00	11,20	0,20	17,60	11,30	0,17	17,50	11,30	0,20
17,50	11,10	0,20	18,10	11,20	0,20	18,00	11,20	0,20
17,80	11,00	0,33	18,40	11,10	0,33	18,30	11,10	0,33
18,00	10,90	0,50	18,60	11,00	0,50	18,50	11,00	0,50
18,20	10,80	0,50	18,80	10,90	0,50	18,70	10,90	0,50
18,30	10,60	2,00	18,90	10,80	1,00	18,80	10,80	1,00
18,40	10,50	1,00	19,00	10,60	2,00	18,90	10,60	2,00
18,50	10,30	2,00	19,10	10,50	1,00	19,00	10,50	1,00
18,60	10,20	1,00	19,20	10,30	2,00	19,10	10,30	2,00
18,70	10,00	2,00	19,30	10,20	1,00	19,20	10,20	1,00
18,80	9,70	3,00	19,40	10,00	2,00	19,30	10,00	2,00
18,90	9,60	1,00	19,55	9,80	1,33	19,40	9,80	2,00
18,95	9,40	4,00	19,60	9,50	6,00	19,45	9,50	6,00
19,00	8,90	10,00	19,66	9,00	8,33	19,50	9,00	10,00
19,05	8,00	18,00	19,71	8,20	16,00	19,55	8,10	18,00
19,10	7,00	20,00	19,76	7,00	24,00	19,60	7,30	16,00
19,15	5,80	24,00	19,81	6,30	14,00	19,65	6,30	20,00
19,20	5,10	14,00	19,86	5,50	16,00	19,70	5,50	16,00
19,25	4,50	12,00	19,91	4,40	22,00	19,75	4,50	20,00
19,35	3,60	9,00	20,01	3,60	8,00	19,85	3,60	9,00
19,45	3,20	4,00	20,11	3,30	3,00	19,95	3,30	3,00
19,65	3,10	0,50	20,31	3,10	1,00	20,15	3,10	1,00
19,85	2,90	1,00	20,51	2,90	1,00	20,35	2,90	1,00
20,15	2,80	0,33	20,81	2,70	0,67	20,65	2,70	0,67
20,50	2,60	0,57	21,11	2,60	0,33	20,95	2,60	0,33
21,00	2,50	0,20	21,81	2,50	0,14	21,45	2,50	0,20
21,50	2,40	0,20	22,41	2,40	0,17	21,95	2,40	0,20
22,00	2,30	0,20	22,91	2,30	0,20	22,45	2,30	0,20
23,00	2,20	0,10	23,91	2,20	0,10	23,45	2,20	0,10

Continuación de la tabla XXI.

24,00	2,10	0,10	24,91	2,10	0,10	24,45	2,10	0,10
25,00	2,00	0,10	25,91	2,00	0,10	25,45	2,00	0,10
26,00	1,90	0,10	26,91	1,90	0,10	26,45	1,90	0,10
27,00	1,80	0,10	27,91	1,80	0,10	27,45	1,80	0,10
28,00	1,70	0,10	28,91	1,70	0,10	28,45	1,70	0,10
29,00	1,60	0,10	29,91	1,60	0,10	29,45	1,60	0,10
31,00	1,50	0,05	31,91	1,50	0,05	31,95	1,50	0,04
33,00	1,40	0,05	34,91	1,40	0,03	35,45	1,40	0,03

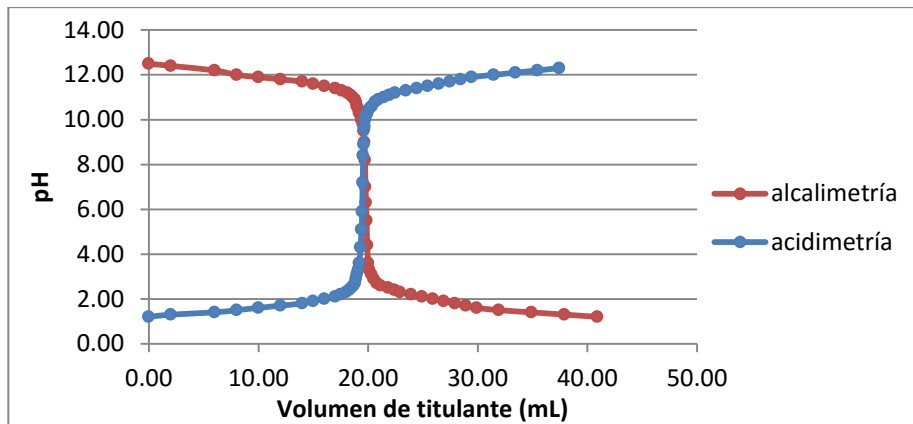
Fuente: práctica experimental de la evaluación del indicador ácido-base natural (LAFIQ y LQ1).

Figura 17. **Curva volumétrica ácido fuerte- base fuerte y base fuerte- ácido fuerte utilizando 0,5 mL del indicador natural ácido-base con variables de operación pHo 3 y t=6 h**



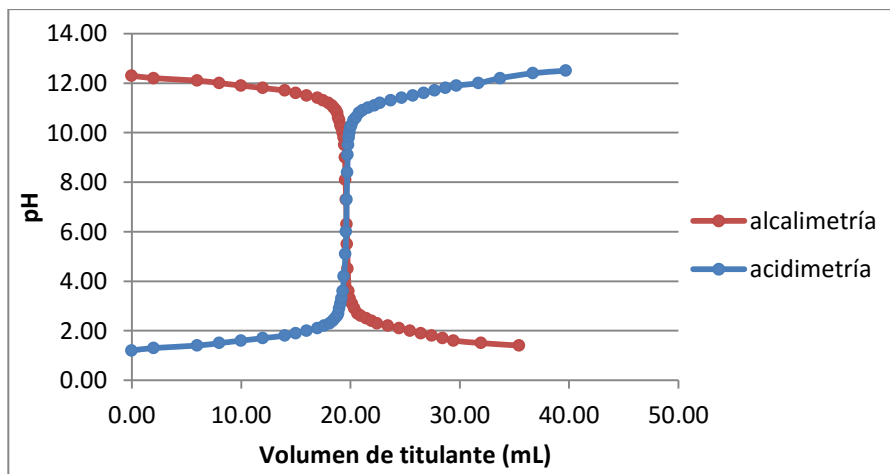
Fuente: elaboración propia, con datos calculados de las tablas XX y XXI.

Figura 18. **Curva volumétrica ácido fuerte- base fuerte y base fuerte-ácido fuerte utilizando 1 mL del indicador natural ácido-base con variable de operación pHo 3 y t=6 h**



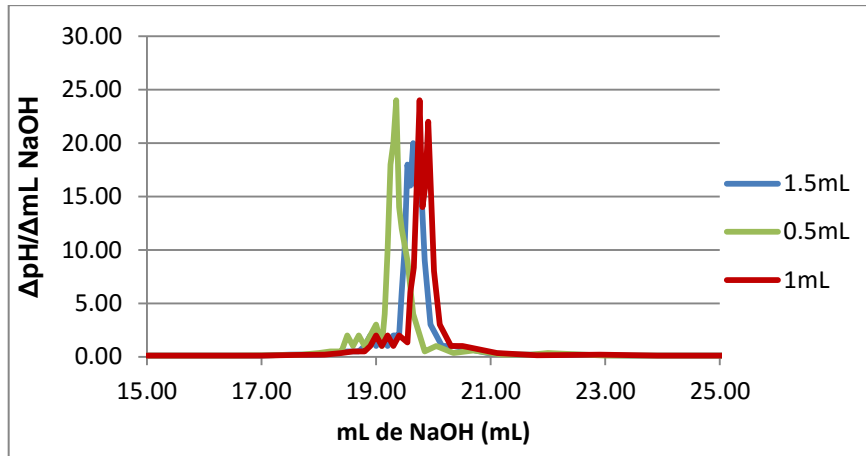
Fuente: elaboración propia, con datos calculados de las tablas XX y XXI.

Figura 19. **Curva volumétrica ácido fuerte- base fuerte y base fuerte-ácido fuerte utilizando 1,5 mL del indicador natural ácido-base con variable de operación pHo 3 y t=6 h**



Fuente: elaboración propia, con datos calculados de las tablas XX y XXI.

Figura 20. **Primera derivada de la curva volumétrica ácido fuerte- base fuerte utilizando 1,5 mL del indicador natural ácido-base con variable de operación pHo 3 y t=6 h**



Fuente: elaboración propia, con datos calculados de las tablas XX y XXI.

Tabla XXII. **Cálculo de datos para curvas de valoración ácido fuerte- base fuerte y método primera derivada variando cantidad de extracto usado como indicador natural ácido-base; variable pHo4 y t=6 h**

0,5mL			1mL			1,5mL		
mL NaOH	pH	$\frac{\Delta pH}{\Delta mL NaOH}$	mL NaOH	pH	$\frac{\Delta pH}{\Delta mL NaOH}$	mL NaOH	pH	$\frac{\Delta pH}{\Delta mL NaOH}$
0,00	1,20	0,00	0,00	1,20	0,00	0,00	1,20	0,00
2,00	1,30	0,05	2,00	1,30	0,05	2,00	1,30	0,05
6,00	1,40	0,03	6,00	1,40	0,03	6,00	1,40	0,03
8,00	1,50	0,05	8,00	1,50	0,05	8,00	1,50	0,05
10,00	1,60	0,05	10,00	1,60	0,05	10,00	1,60	0,05
12,00	1,70	0,05	12,00	1,70	0,05	12,00	1,70	0,05
15,00	1,90	0,10	15,00	1,90	0,10	15,00	1,90	0,10
16,00	2,00	0,10	16,00	2,00	0,10	16,00	2,00	0,10
17,00	2,10	0,10	17,00	2,10	0,10	17,00	2,10	0,10
17,50	2,20	0,20	17,50	2,20	0,20	17,50	2,20	0,20
18,00	2,30	0,20	18,00	2,30	0,20	18,00	2,30	0,20
18,30	2,40	0,33	18,30	2,40	0,33	18,40	2,40	0,25

Continuación de la tabla XXII.

18,50	2,50	0,50	18,50	2,50	0,50	18,60	2,50	0,50
18,70	2,60	0,50	18,70	2,60	0,50	18,80	2,60	0,50
18,90	2,90	2,00	18,95	2,90	2,00	19,00	2,90	2,00
19,00	3,10	2,00	19,05	3,10	2,00	19,10	3,10	2,00
19,10	3,30	2,00	19,15	3,30	2,00	19,20	3,30	2,00
19,20	3,60	3,00	19,25	3,60	3,00	19,30	3,60	3,00
19,30	4,30	7,00	19,35	4,30	7,00	19,45	4,30	4,67
19,40	5,10	8,00	19,45	5,10	8,00	19,55	5,10	8,00
19,45	5,80	14,00	19,50	5,90	16,00	19,60	5,90	16,00
19,50	7,10	26,00	19,55	7,20	26,00	19,65	7,20	26,00
19,55	8,40	26,00	19,60	8,40	24,00	19,70	8,50	26,00
19,60	9,00	12,00	19,66	9,10	11,67	19,75	9,10	12,00
19,65	9,60	12,00	19,71	9,60	10,00	19,80	9,60	10,00
19,70	9,70	2,00	19,76	9,70	2,00	19,85	9,70	2,00
19,75	10,00	6,00	19,81	10,00	6,00	19,90	10,00	6,00
19,85	10,20	2,00	19,91	10,20	2,00	20,00	10,20	2,00
19,95	10,30	1,00	20,01	10,30	1,00	20,10	10,30	1,00
20,15	10,50	1,00	20,21	10,50	1,00	20,30	10,50	1,00
20,35	10,60	0,50	20,41	10,60	0,50	20,50	10,60	0,50
20,50	10,80	1,33	20,61	10,80	1,00	20,70	10,80	1,00
21,40	11,00	0,20	21,51	11,00	0,20	21,60	11,00	0,20
21,90	11,10	0,20	22,01	11,10	0,20	22,10	11,10	0,20
22,40	11,20	0,20	22,76	11,20	0,13	22,85	11,20	0,13
23,40	11,30	0,10	23,76	11,30	0,10	23,85	11,30	0,10
24,40	11,40	0,10	24,76	11,40	0,10	24,85	11,40	0,10
25,40	11,50	0,10	25,76	11,50	0,10	25,85	11,50	0,10
26,40	11,60	0,10	26,76	11,60	0,10	26,85	11,60	0,10
27,40	11,70	0,10	27,76	11,70	0,10	27,85	11,70	0,10
28,40	11,80	0,10	28,76	11,80	0,10	28,85	11,80	0,10
29,40	11,90	0,10	29,76	11,90	0,10	29,85	11,90	0,10
31,40	12,00	0,05	31,76	12,00	0,05	31,85	12,00	0,05
33,40	12,10	0,05	33,76	12,10	0,05	33,85	12,10	0,05
35,40	12,20	0,05	35,76	12,20	0,05	35,85	12,20	0,05
37,40	12,30	0,05	38,76	12,40	0,07	37,85	12,30	0,05

Fuente: práctica experimental de la evaluación del indicador ácido-base natural (LAFIQ y LQ1).

Tabla XXIII. **Cálculo de datos para curvas de valoración base fuerte-ácido fuerte y método primera derivada variando cantidad de extracto usado como indicador natural ácido-base; variable pH₀₄ y t=6 h**

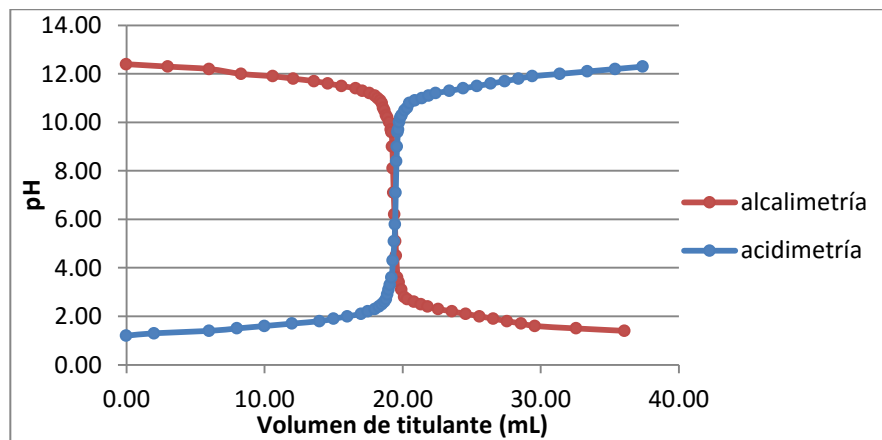
0,5mL			1mL			1,5mL		
mL HCl	pH	$\frac{\Delta pH}{\Delta mL HCl}$	mL HCl	pH	$\frac{\Delta pH}{\Delta mL HCl}$	mL HCl	pH	$\frac{\Delta pH}{\Delta mL HCl}$
0,00	12,40	0,00	0,00	12,40	0,00	0,00	12,40	0,00
3,00	12,30	0,03	2,00	12,30	0,05	2,00	12,20	0,10
7,00	12,20	0,03	6,00	12,10	0,05	6,00	12,10	0,02
9,50	12,00	0,08	8,00	12,00	0,05	8,00	12,00	0,05
12,00	11,90	0,04	10,00	11,90	0,05	10,00	11,90	0,05
14,00	11,80	0,05	12,00	11,70	0,10	12,00	11,80	0,05
16,00	11,70	0,05	14,00	11,70	0,00	14,00	11,70	0,05
17,00	11,60	0,10	15,00	11,60	0,10	15,00	11,60	0,10
18,00	11,50	0,10	16,00	11,40	0,20	16,00	11,50	0,10
19,00	11,40	0,10	17,00	11,40	0,00	17,00	11,40	0,10
20,00	11,20	0,20	18,20	11,20	0,20	18,20	11,20	0,20
20,40	11,10	0,25	18,50	11,10	0,33	18,50	11,10	0,33
20,60	11,00	0,50	18,80	11,00	0,33	18,70	11,00	0,50
20,80	10,90	0,50	19,00	10,90	0,50	18,90	10,90	0,50
20,90	10,80	1,00	19,10	10,80	1,00	19,05	10,80	0,67
21,00	10,60	2,00	19,20	10,60	2,00	19,15	10,70	1,00
21,20	10,30	2,00	19,40	10,30	2,00	19,35	10,40	1,00
21,30	10,20	1,00	19,50	10,10	2,00	19,45	10,20	2,00
21,45	10,00	1,33	19,60	10,10	0,00	19,55	10,00	2,00
21,55	9,70	3,00	19,70	9,70	4,00	19,65	9,90	1,00
21,60	9,60	2,00	19,75	9,60	2,00	19,70	9,50	8,00
21,65	9,00	12,00	19,80	9,40	4,00	19,75	9,10	8,00
21,70	8,10	18,00	19,85	8,40	20,00	19,80	8,20	18,00
21,75	7,10	20,00	19,90	7,00	28,00	19,86	7,20	16,67
21,80	6,20	18,00	19,95	5,90	22,00	19,91	6,20	20,00
21,85	5,10	22,00	20,00	5,10	16,00	19,96	5,50	14,00
21,90	4,50	12,00	20,05	4,20	18,00	20,06	4,30	12,00
22,00	3,60	9,00	20,15	3,70	5,00	20,21	3,60	4,67
22,10	3,40	2,00	20,25	3,30	4,00	20,31	3,30	3,00
22,30	3,10	1,50	20,45	3,10	1,00	20,51	3,10	1,00
22,50	2,80	1,50	20,65	2,90	1,00	20,71	2,90	1,00
22,70	2,70	0,50	20,80	2,70	1,33	20,91	2,70	1,00
23,20	2,60	0,20	21,25	2,60	0,22	21,31	2,60	0,25
23,70	2,50	0,20	21,75	2,50	0,20	21,81	2,50	0,20
24,20	2,40	0,20	22,25	2,40	0,20	22,31	2,40	0,20
24,95	2,30	0,13	22,75	2,30	0,20	23,06	2,30	0,13
25,95	2,20	0,10	23,75	2,20	0,10	24,06	2,20	0,10
26,95	2,10	0,10	24,75	2,10	0,10	25,06	2,10	0,10
27,95	2,00	0,10	25,75	2,00	0,10	26,06	2,00	0,10

Continuación de la tabla XXIII.

29,95	1,80	0,10	27,75	1,80	0,10	28,06	1,80	0,10
30,95	1,70	0,10	28,75	1,70	0,10	29,06	1,70	0,10
31,95	1,60	0,10	29,75	1,60	0,10	31,06	1,60	0,05
34,95	1,50	0,03	31,75	1,50	0,05	34,06	1,50	0,03
38,45	1,40	0,03	34,75	1,40	0,03	38,06	1,40	0,03
0,00	12,40	0,00	0,00	12,40	0,00	0,00	12,40	0,00
3,00	12,30	0,03	2,00	12,30	0,05	2,00	12,20	0,10

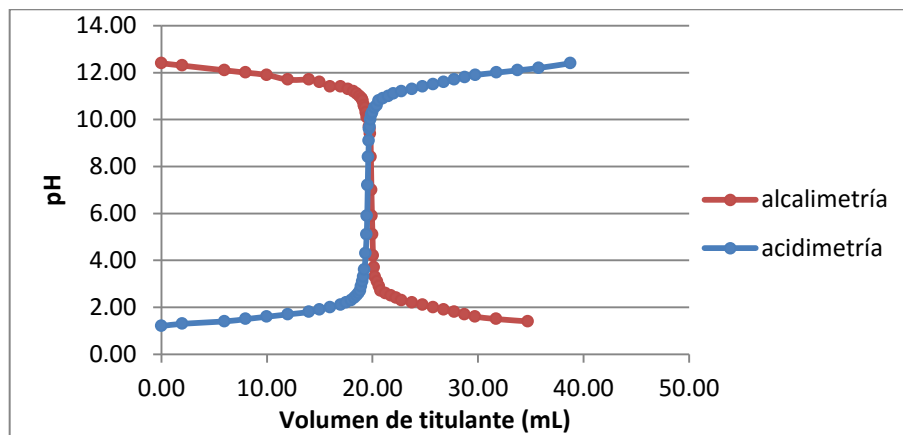
Fuente: práctica experimental de la evaluación del indicador ácido-base natural (LAFIQ y LQ1).

Figura 21. **Curva volumétrica ácido fuerte- base fuerte y base fuerte- ácido fuerte utilizando 0,5mL del indicador natural ácido-base con variable de operación pHo 4 y t=6 h**



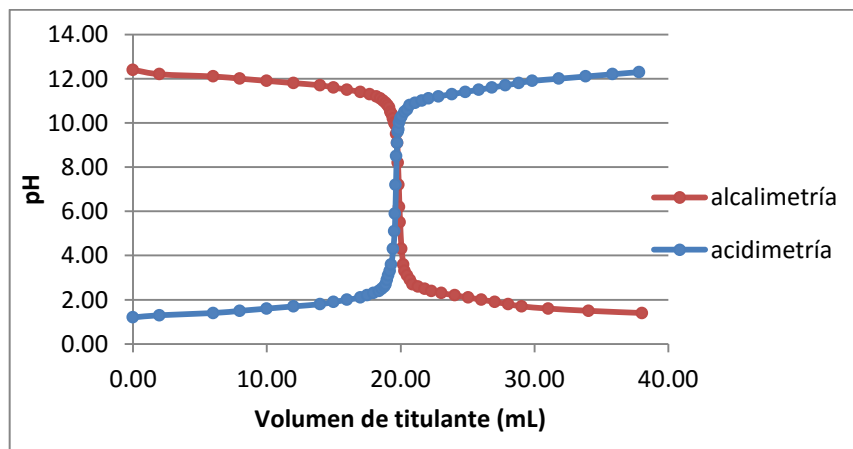
Fuente: elaboración propia, con datos calculados de las tablas XXII y XXIII.

Figura 22. **Curva volumétrica ácido fuerte- base fuerte y base fuerte- ácido fuerte utilizando 1 mL del indicador natural ácido-base con variable de operación pHo 4 y t=6 h**



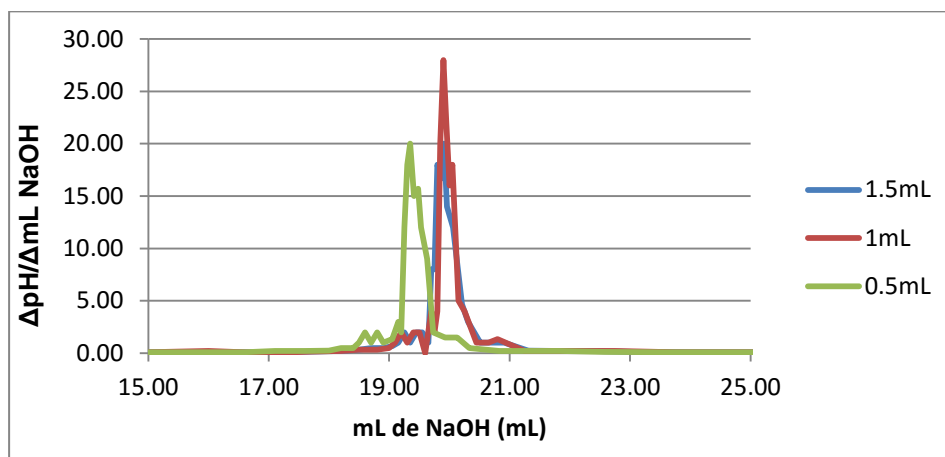
Fuente: elaboración propia, con datos calculados de las tablas XXII y XXIII.

Figura 23. **Curva volumétrica ácido fuerte- base fuerte y base fuerte- ácido fuerte utilizando 1,5 mL del indicador natural ácido-base con variables de operación pHo 4 y t=6 h**



Fuente: elaboración propia, con datos calculados de las tablas XXII y XXIII.

Figura 24. **Primera derivada de la curva volumétrica ácido fuerte- base fuerte utilizando diferentes volúmenes del indicador natural ácido-base con variable de operación pHo 4 y t= 6 h**



Fuente: elaboración propia, con datos calculados de las tablas XXII y XXIII.

Tabla XXIV. **pK_{ind} promedio experimental adicionando diferentes volúmenes del extracto utilizado como indicador ácido-base natural**

Variables	0,5mL	1mL	1,5mL
pHo3, 3h	8,4	8,3	8,4
pHo4, 3h	8,3	8,4	8,4
pHo3, 6h	8,4	8,4	8,4
pHo4, 6h	8,4	8,4	8,5
Promedio (%)	8,4		
Desviación estandar	±0,029		

Fuente: elaboración propia, con datos calculados de las figuras 12, 16, 24 y 20.

Tabla XXV. **Análisis de variación Anova para la interpretación de la hipótesis de trabajo planteada en base a los diferentes pK_{ind} de las variables de operación aplicando diferentes volumen del indicador ácido-base natural**

Origen de las variables	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Promedio de cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
pK indicador	0,009	3	0,003	1,375	0,338	4,757
Volumen de indicador	0,007	2	0,003	1,500	0,296	5,143
Error	0,013	6	0,002			
Total	0,029	11				

Fuente: elaboración propia, con datos de la tabla XXIV.

Apéndice 2. Imágenes de la parte experimental

Fotografía 1-3: Materia prima, rábano rojo (*Raphanus sativus* var)



Fuente: elaboración propia, 20 de febrero de 2015, tomada por Lourdes Ozaeta.

Fotografía 4-6: Secado de la materia prima y maceración dinámica a reflujo



Fuente: elaboración propia con el apoyo de UTRECHT, USAC, 01-19 de mayo de 2015, tomada por Lourdes Ozaeta.

Fotografía 7-8: Molienda y tamizado



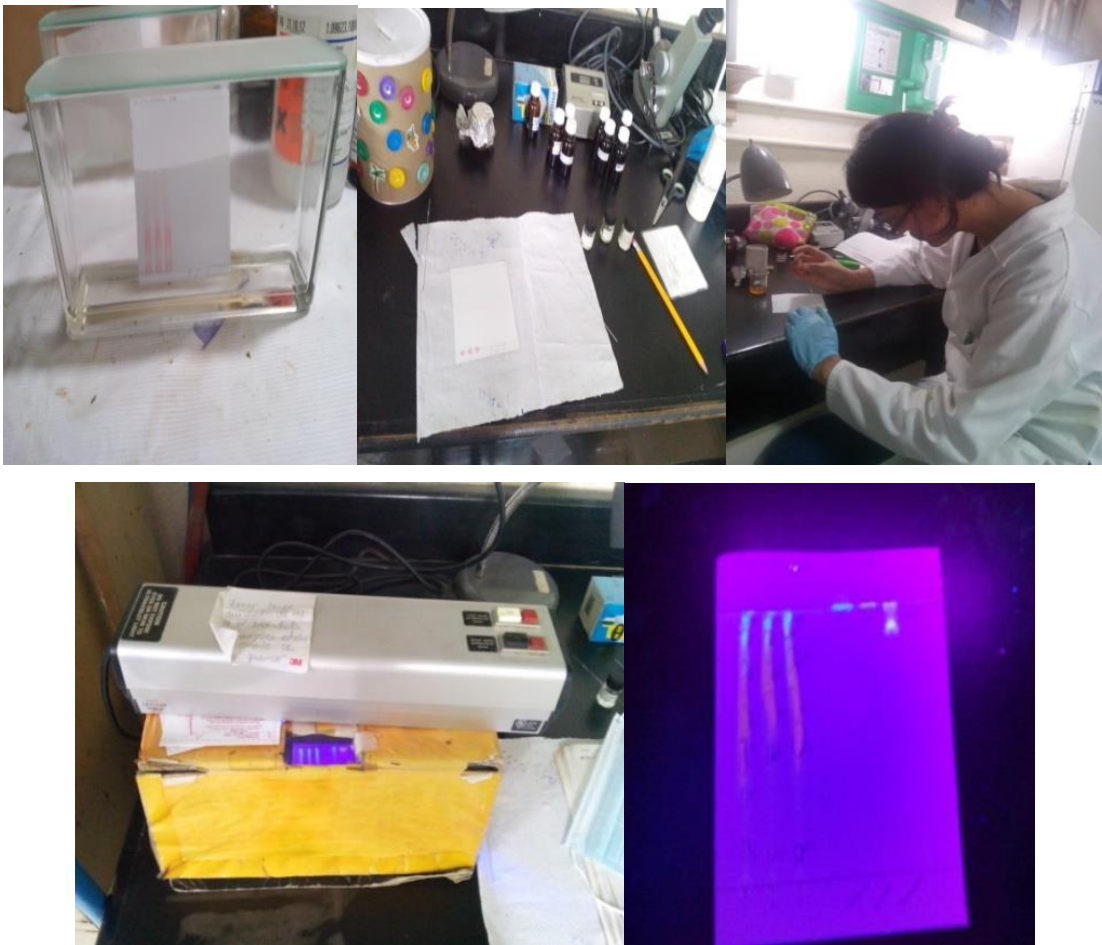
Fuente: elaboración propia con el apoyo de LQ1 y LIEXVE, USAC, 04-19 de mayo de 2015, tomada por Lourdes Ozaeta.

Fotografía 9-10: Filtración al vacío y rotaevaporación



Fuente: elaboración propia con el apoyo de LAFIQ y LIPRONAT, USAC, 12-20 de mayo de 2015, tomada por Lourdes Ozaeta.

Fotografía 11-15: Tamizaje fitoquímico, cromatografía en capa fina



Fuente: elaboración propia con el apoyo de LIPRONAT, USAC, 24-28 de mayo de 2015, tomada por Lourdes Ozaeta.

Fotografía 16-18: Secado al vacío y obtención de pasta deshidrata como indicador ácido-base natural



Fuente: elaboración propia con el apoyo de LIEXVE, USAC, 19-22 de mayo de 2015, tomada por Lourdes Ozaeta.

Fotografía 19-20: Porcentaje de humedad en materia prima y pasta deshidratada



Fuente: elaboración propia con el apoyo de LIPRONAT, USAC, 22 de mayo de 2015, tomada por Lourdes Ozaeta.

Fotografía 21-23: Reconstitución del indicador ácido-base natural



Fuente: elaboración propia con el apoyo de LQ1, USAC, 01-05 de junio de 2015, tomada por Lourdes Ozaeta.

Fotografía 24-25: Barridos de absorbancia por espectrofotometría UV



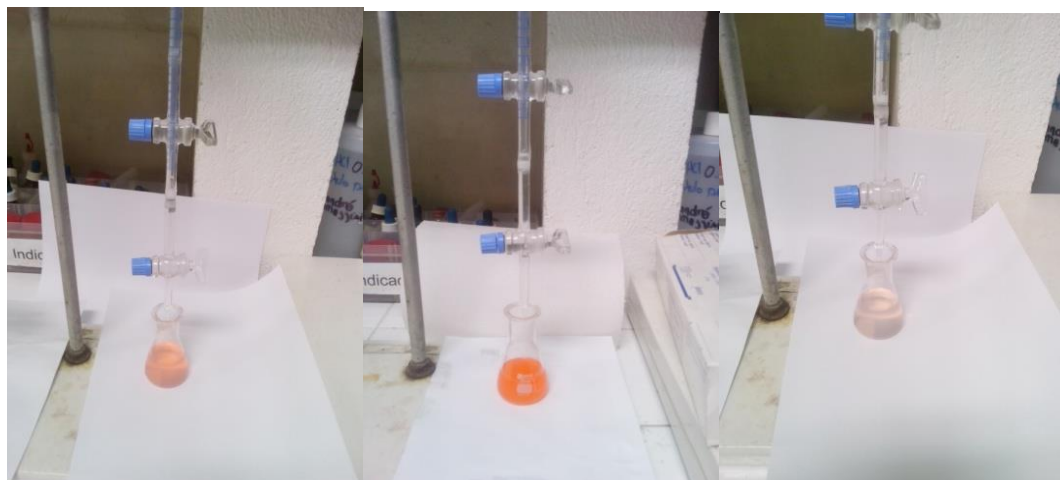
Fuente: elaboración propia con el apoyo de LAFIQ, USAC, 05 de junio de 2015, tomada por Lourdes Ozaeta.

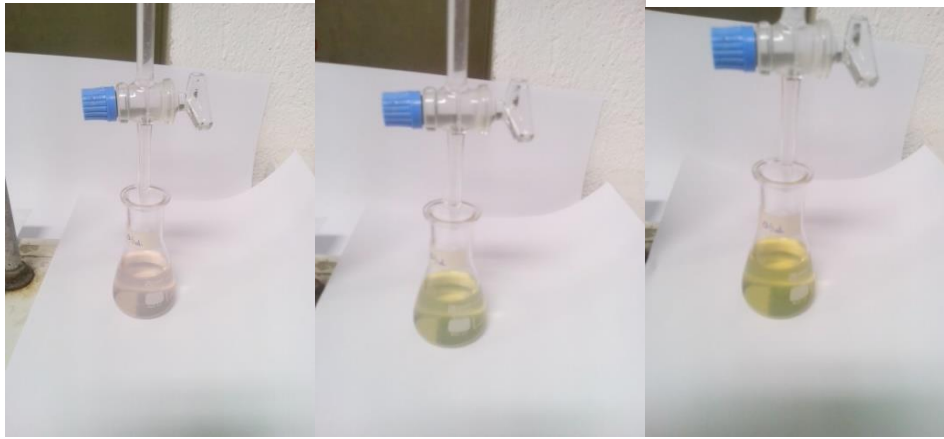
Fotografía 26-28: Titulaciones ácido-base



Fuente: elaboración propia con el apoyo de LAFIQ y LQ1, USAC, 04-11 de junio de 2015, tomada por Lourdes Ozaeta.

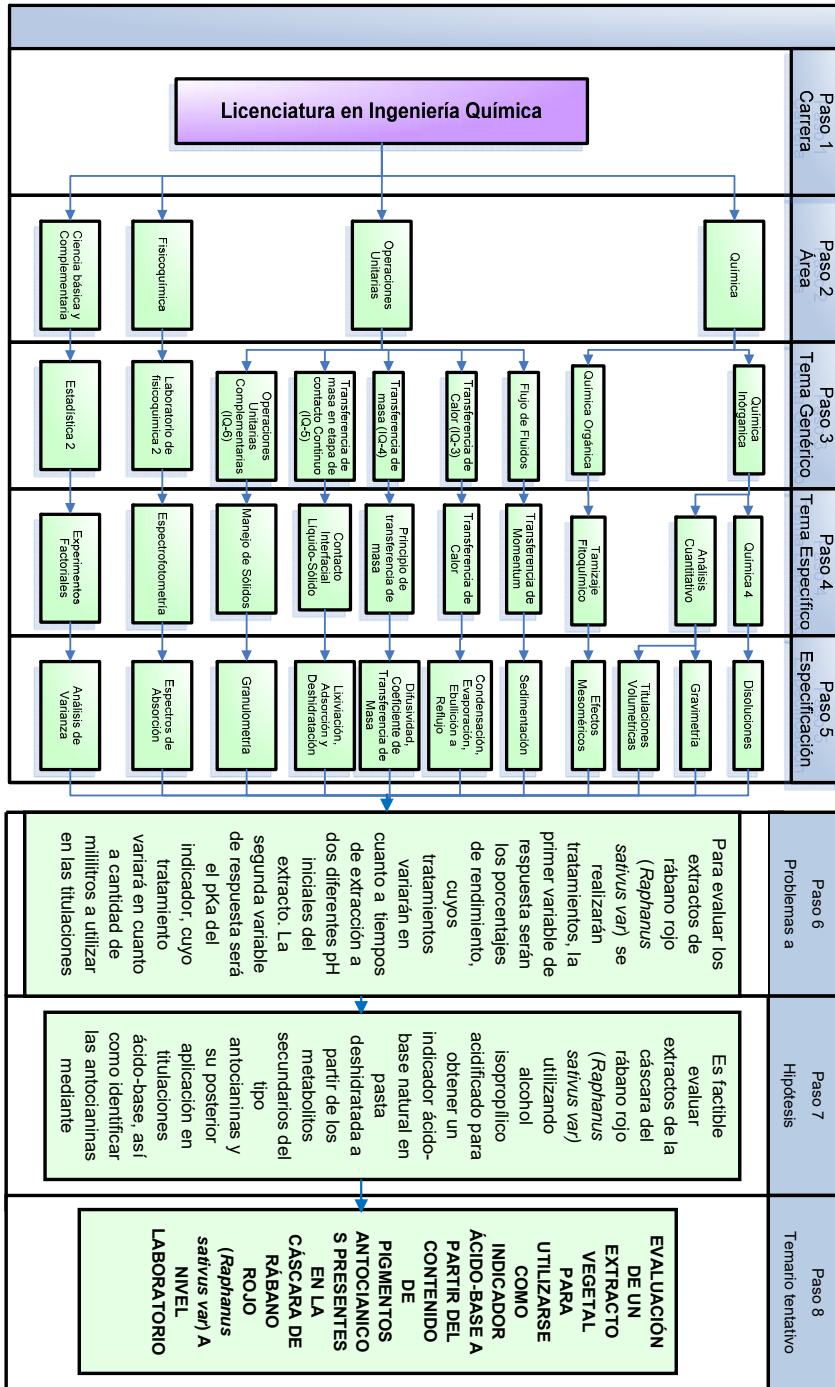
Fotografía 29-37: Virajes del indicador ácido-base natural en pH 1.1, 2.5, 3.5, 4.5, 8.4 (pK_{ind}) y 9 respectivamente, así como variación de volúmenes de indicador.





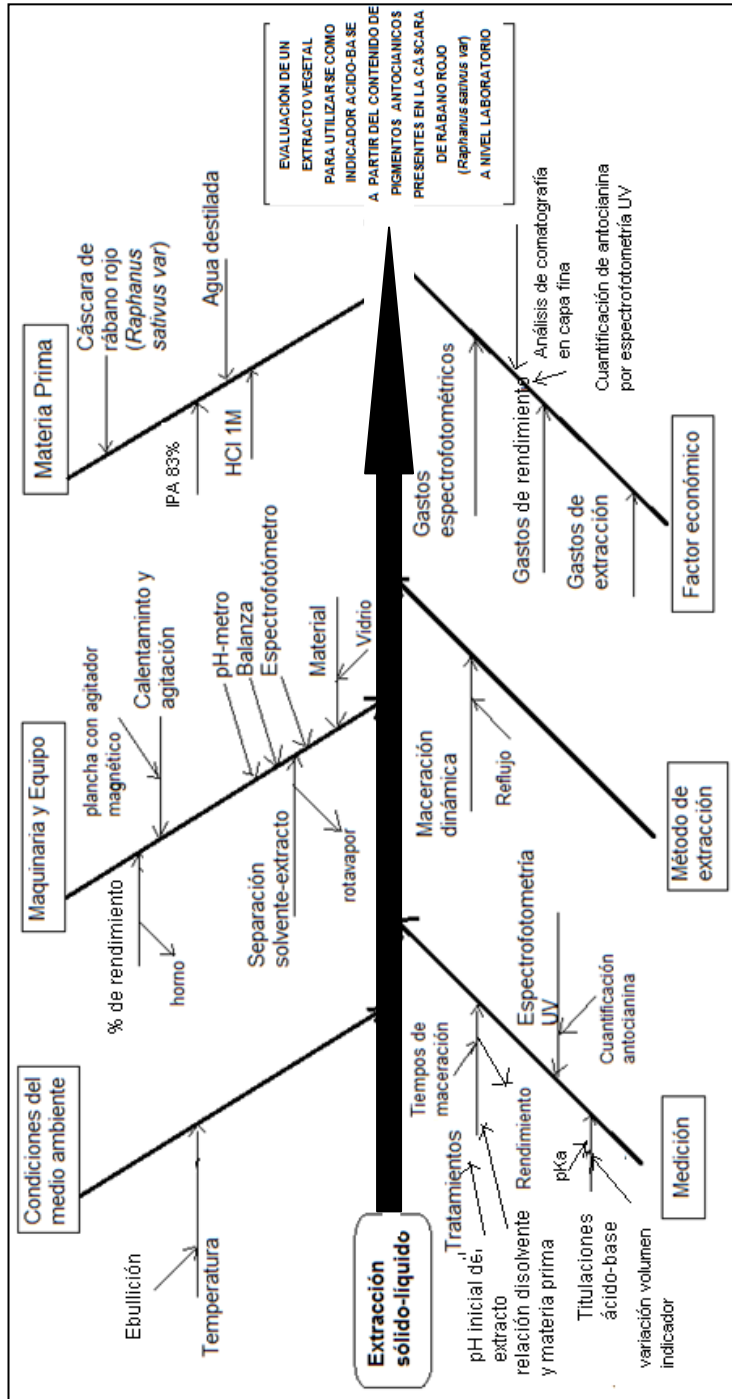
Fuente: elaboración propia con el apoyo de LAFIQ y LQ1, USAC, 11 de junio de 2015, tomada por Lourdes Ozaeta.

Apéndice 3. Requisitos académicos



Fuente: elaboración propia.

Apéndice 4. Diagrama de Ishikawa



Fuente: elaboración propia, con programa Microsoft Visio.

ANEXOS

Coeficiente de extinción molar de algunas antocianinas y antocianidinas.

Pigmento ¹	Peso Molecular ² (g/mol)	Medio	Absorción máxima (nm)	E max. (X10 ⁴)	Referencia
Pelargonidina	324.5	0.1% HCl en C ₂ H ₅ OH	504.5	1.78	Schou (1927)
Pl-3-Gl	486.5	1.0% HCl en H ₂ O	496.0	2.46	Jorgensen (1955)
Cianidina	340.5	0.1% HCl en C ₂ H ₅ OH	510.5	2.46	Schou (1927)
		0.1% HCl en C ₂ H ₅ OH	547.0	3.47	Ribèreau-Gayon (1959)
Cy-3-Ga	502.5	0.1% HCl en CH ₃ OH	530.0	3.43	Siegelman <i>et al</i> (1958)
		0.1N HCl en C ₂ H ₅ OH (85:15)	535.0	4.49	Sakamura <i>et al</i> (1961)
		0.1N HCl en C ₂ H ₅ OH (85:15)	535.0	4.62	Zapalis <i>et al</i> (1965)
Cy-3-Ar	472.5	0.1N HCl en C ₂ H ₅ OH (85:15)	538.0	4.44	Zapalis <i>et al</i> (1965)
Cy-3-RhGl	650.5	1.0% HCl en H ₂ O	512.0	2.82	Jrgensen <i>et al</i> (1955)
Cy-3,5-Gl	664.5	0.1N HCl en C ₂ H ₅ OH (85:15)	535.0	1.25	Ribèreau-Gayon (1959)
Peonidina	354.5	0.1% HCl en C ₂ H ₅ OH	511.0	3.72	Schou (1927)
		0.1N HCl en C ₂ H ₅ OH (85:15)	532.0	4.08	Sakamura <i>et al</i> (1961)
Pn-3-Gl	516.5	0.1% HCl en CH ₃ OH	536.0	1.13	Somers (1966)
Pn-3-Ga	516.5	0.1N HCl en C ₂ H ₅ OH (85:15)	532.0	4.84	Sakamura <i>et al</i> (1961)
		0.1N HCl en C ₂ H ₅ OH (85:15)	532.0	4.84	Zapalis <i>et al</i> (1965)
Pn-3-Ar	486.5	0.1N HCl en C ₂ H ₅ OH (85:15)	532.0	4.61	Zapalis <i>et al</i> (1965)
Delfidina	356.5	0.1N HCl en C ₂ H ₅ OH	522.5	3.47	Schou (1927)
		PPhT	547.0	3.24 ³	Spaeth <i>et al</i> (1950)
Dp-3-Gl	518.5	0.1% en CH ₃ OH	543.0	2.90	Asen <i>et al</i> (1959)
Petunidina	370.5	PPhT	549.0	3.46 ³	Sperth <i>et al</i> (1950)
Dp-3-Gl	518.5	0.1% en CH ₃ OH	543.0	2.90	Asen <i>et al</i> (1959)
Petunidina	370.5	PPhT	549.0	3.46 ³	Sperth <i>et al</i> (1950)
Pt-3-Gl	532.5	0.1% HCl en CH ₃ OH	546.0	1.29	Somers (1966)
Malvidina	400.5	0.1% HCl en C ₂ H ₅ OH	520.0	3.72	Schou (1927)
		0.1% HCl en C ₂ H ₅ OH	557.0	3.62	Ribèreau-Gayon (1959)
		0.1 % HCl en CH ₃ OH	547.0	3.16	Koepfen <i>et al</i> (1966)
		PPhT	551.0	3.71 ³	Spaeth <i>et al</i> (1950)
Mv-3-Gl	562.5	0.1% HCl en CH ₃ OH	546.0	1.39	Somers (1966)
		0.1% HCl en CH ₃ OH	538.0	2.95	Koepfen <i>et al</i> (1966)
Mv-3,5-Gl	724.5	0.1% HCl en C ₂ H ₅ OH	519.0	1.07	Schou (1927)
		0.1% HCl en C ₂ H ₅ OH	545.0	1.03	Ribèreau-Gayon <i>et al</i> (1959)
Mv-3-p-coumaril-Gl	718.5	0.1% HCl en CH ₃ OH	536.0	3.02	Koepfen <i>et al</i> (1966)

¹Pl=Pelargonidina, Cy=Cianidina, Pn=Peonidina, Dp=Delfidina, Pt=Petunidina, Mv=Malvidina, Gl=Glucosido, Ga=Galactosido, Ar=Arabinosido, Rh=Ramosido.

²Las determinaciones fueron llevadas a cabo en medio ácido (HCl), el peso molecular de los cloruros fueron dados y ellos incluyen un molécula de agua de recristalización.

³Los autores usaron como solvente ácido fosforicfenoltolueno (PPhT) 10% y el coeficiente de extinción molar fue determinado a 550 nm en lugar del máximo.

Fuente: FULEKI, T. y FRANCIS F.J. Quantitative Methods for Anthocyanins. Extraction and Determination of Total Anthocyanin in cranberries. Journal Of Food Science. p.73.

