

Una propuesta experimental sencilla para los laboratorios del bachillerato.

# Indicadores de pH obtenidos de flores y de hortalizas

Adolfo Obaya Valdivia, Rafael García Barrera y Marcela Mena García\*

## Abstract (*pH indicators obtained from flowers and garden vegetables*)

Anthocyanins are found in flowers and fruits of natural plants. Because their color depends on pH, they can be used as pH indicators. We present a simple procedure to obtain anthocyanin indicator pearls that can be useful tools to illustrate basic chemical equilibrium concepts at high school level.

## Introducción

Las antocianinas son pigmentos solubles en agua que se encuentran formando parte de algunos órganos de plantas que generalmente presentan color violeta o naranja. Estos pigmentos son glucósidos (Brouillard y Markakis, 1982) y dan color a las plantas, por lo que se localizan principalmente en la cáscara de las frutas como las manzanas, las peras, etcétera. En la mayoría de las frutas, las antocianinas se acumulan en las vacuolas de los tejidos epidérmicos y sub-epidérmicos. Uno de los papeles de estos pigmentos es atraer insectos y animales, los cuales contribuyen a dispersar las semillas de la planta. Las diferencias de color que existen entre diferentes frutos dependen de la naturaleza y concentración de las antocianinas.

La mayoría de las frutas contienen una mezcla de antocianinas; algunas de ellas contienen un solo pigmento, como la "fruta de la pasión", (Ishikura y Sugahara, 1979), o dos antocianinas, como los duraznos (Ishikura, 1975) y las peras (Timberlake y Bridle, 1971). Un complejo diseño de más de veinte antocianinas se encuentra en algunas uvas (Williams, *et al.*, 1978; Wulf y Nagel, 1978).

Durante el proceso de maduración de la fruta, la síntesis de antocianinas se incrementa gradualmente, alcanzando un máximo cuando la maduración se completa. Esto puede observarse en la maduración de las fresas donde la producción de las antocianinas es muy lenta hasta 35 días después de la caída de las hojas, cuando la clorofila y los carote-

noides están casi en sus niveles más bajos. Como el contenido de antocianina se incrementa gradualmente durante la maduración, el contenido total de antocianina es considerado como un indicador de la maduración de la fruta y uno de los parámetros de calidad más importantes.

Existen algunos factores (luz, temperatura, condiciones de agua, azúcares, heridas e infecciones) que afectan los niveles de antocianina en frutas. El más importante de estos efectos es la luz; por ejemplo, el color de las uvas está marcadamente afectado por la cantidad de radiación solar que el racimo recibe. El efecto de la luz en la síntesis de antocianinas se expresa en la activación de las diferentes enzimas involucradas en su biosíntesis. A pesar de que FAL (fenilalanina amonio liasa) no es una enzima clave en esta ruta biosintética, se ha encontrado que la síntesis de antocianina está directamente influenciada por la presencia de esta enzima (Camm y Towers, 1978). En una serie de frutas tales como fresas y manzanas, se puede establecer una correlación directa entre la acumulación de antocianinas durante la maduración y la cantidad de FAL. En el caso de la manzana, la actividad de esta enzima fue detectada sólo en las partes rojas de la cáscara.

La relación entre las otras enzimas involucradas en la biosíntesis de flavonoides y la acumulación de antocianinas en frutas no está aún completamente elucidada. Se supone que la biosíntesis de antocianinas toma lugar vía los dihidroflavonoides. Los últimos pasos en la biosíntesis son la glicosilación y la acilación.

Otro factor que afecta a las antocianinas es la temperatura. Se sabe que las frutas que tienen un alto contenido de estas sustancias y que presentan un alta coloración se encuentran en las regiones frías. Una investigación llevada a cabo por Tan (1979) demostró que temperaturas menores de 6°C estimularon la síntesis de antocianinas y la actividad de FAL se incrementó.

Los flavonoides, particularmente las antocianinas, difieren significativamente en estabilidad de las otras dos clases de pigmentos mayoritarios: las clorofilas lípido-solubles y los carotenoides. En general, las antocianinas son considerablemente más esta-

\* FES Cuautitlán, UNAM, Apdo. Postal 25, C.P 054740, Cuautitlán Izcalli, Estado de México.

Recibido: 16 de octubre de 1997.

Aceptado: 5 de octubre de 1998.

bles en tejidos de frutas que los carotenoides o clorofilas, aunque ésta no es una regla invariable.

El color de las antocianinas depende del pH del medio en que se encuentren (Heines, 1972), por lo que en ocasiones pueden servir como indicadores en alguna demostración experimental (Forster, 1978; Mebane y Rybolt, 1985): a pH 1 son cationes altamente coloridos y cuando el pH se incrementa el color gradualmente desaparece hasta formar una pseudobase incolora (figura 1).

La presente propuesta experimental se basa en la obtención de los extractos coloridos de algunas plantas, que al mezclarse con un polisacárido forman perlas indicadoras que cambian de color según el pH del medio en que se encuentren. Debido a que los cambios de color son reversibles, las perlas indicadoras podrían ser útiles en la demostración y enseñanza de conceptos de equilibrio químico a nivel bachillerato.

**Material**

- 1 espátula
- 1 vidrio de reloj
- 1 matraz aforado de 250 mL
- 2 matraces aforados de 50 mL
- 2 vasos de precipitados de 50 mL
- 2 vasos de precipitados de 600 mL
- 1 pipeta graduado de 10 mL
- 1 pipeta volumétrica de 20 mL
- 1 agitador magnético
- 10 tubos de ensaye
- 1 gradilla
- 1 balanza granataria
- 1 parrilla eléctrica

**Soluciones de trabajo**

- 100 mL de alginato de sodio al 3%
- 500 mL de cloruro de calcio al 1%
- 50 mL de HCl 0.1M.
- 50 mL de NaOH 0.1 M.
- Agua destilada
- Plantas de estudio
- Col morada
- Betabel
- Bugambilia roja
- Flor de cempazúchil
- Flor amarilla de tulipán

**Metodología**

Con el fin de llevar a cabo la preparación de las perlas indicadoras de pH se seleccionaron las si-

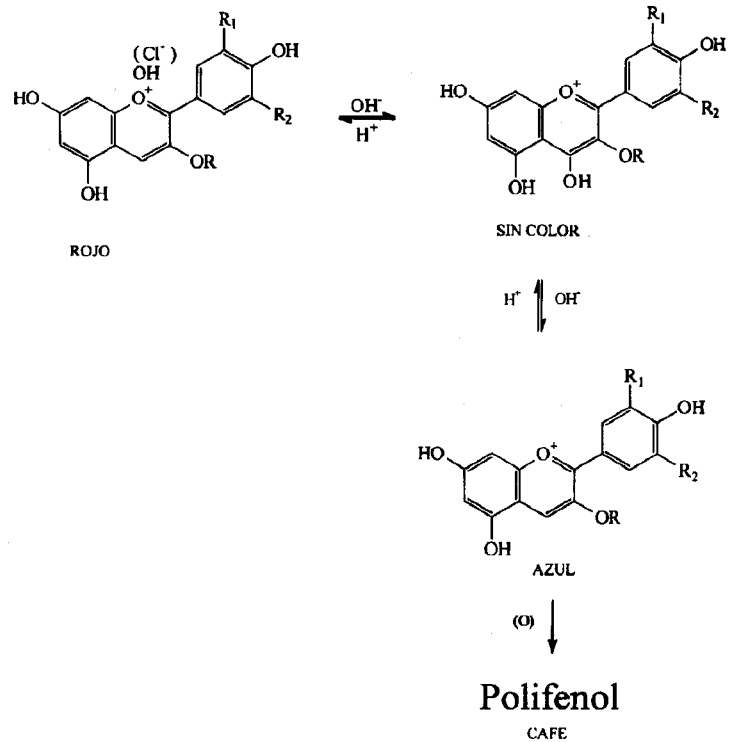


Figura 1. Efecto del pH en la estructura química de una antocianina.

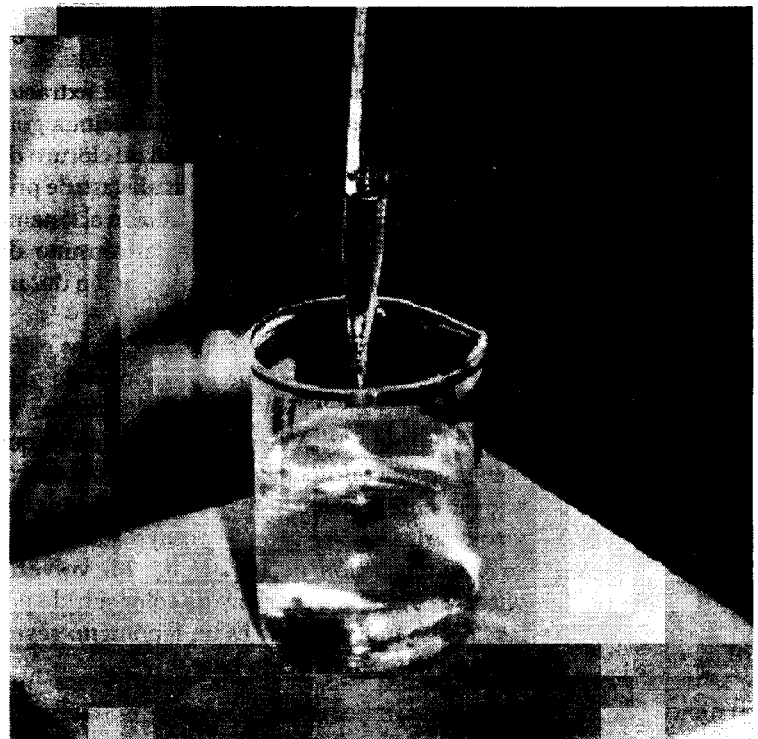


Figura 2.

Tabla 1. Colores mostrados a diferentes valores de pH para cada una de las plantas de estudio

No. de evento	Flor de estudio	Color observado a pH = 1	Color observado a pH = 7	Color observado a pH = 14
1	Col morada	Rojo	Azul	Verde
2	Bugambilla	Naranja	Rojo	Amarillo
3	Betabel	Café-naranja	Café-naranja	Amarillo-verdoso
4	Flor amarilla de tulipán	Amarillo	Incolora	Amarillo-intenso
5	Cempazúchil	Amarillo	Amarillo-verdoso	Café

guientes plantas de estudio: col morada, betabel, bugambilia roja, flor de cempazúchil y flor amarilla de tulipán, que son especies de la flora mexicana, así como una hortaliza de uso común. Para lograrlo es necesario:

1. Pesar aproximadamente 100 g de la especie en estudio, lavarla y hervirla en un volumen de 400 mL de agua destilada. Filtrar el extracto y dejarlo enfriar a temperatura ambiente.
2. Tomar un volumen de 30 mL del extracto y mezclarlo con 20 mL de una disolución de alginato de sodio al 3%
3. La mezcla del alginato de sodio y el extracto, obtenida en el punto anterior, se adiciona gota a gota a 100 mL de una disolución de cloruro de calcio al 1% que se encontrará en un vaso de precipitados (figura 2). Durante la adición el sistema debe mantenerse en agitación; al término de ésta, se guarda la mezcla en refrigeración durante 24 horas.
4. Después de 24 horas, las perlas formadas están listas para ser usadas como indicadores de pH.
5. Seleccionar algunas de las perlas, observar su color e introducirlas en un tubo de ensayo que contenga una disolución de HCl 0.1 M; observar nuevamente el color. Tomar estas mismas perlas y colocarlas en otro tubo de ensayo que contenga una disolución de NaOH 0.1 M; volver a observar el color. El cambio de color sufrido por las "perlas indicadoras" es un fenómeno reversible de naturaleza ácido-base.

### Resultados

Los cambios de color de las perlas de polisacárido dependen estrictamente del valor de pH. La tabla 1

muestra los colores presentados a diferente pH para cada una de las plantas de estudio.

La adición de la mezcla extracto-polisacárido se realizó por goteo con un gotero en los casos 1 y 2, y con una pipeta graduada de 10 mL para los casos 3, 4 y 5, obteniendo así perlas amorfas y perlas completamente esféricas, respectivamente. Por lo tanto, para una mejor obtención de las perlas indicadoras, se recomienda usar alginato de sodio al 3% y una pipeta graduada de 10 mL durante la adición por goteo.

### Conclusión

Se concluye que la preparación de las perlas indicadoras se puede realizar a partir de extractos de partes de plantas que contengan antocianinas como pigmento estructural, o cualquier otro pigmento que sea soluble en agua (ya que la extracción es en medio acuoso) como las betalainas y carotenoides, cuyas coloraciones van de rojo a violeta y amarillo a rojo, respectivamente. Las perlas indicadoras deben ser vistas no solamente como indicadores de pH elaboradas de forma sencilla a partir de reactivos no costosos, sino también como un recurso de enseñanza de conceptos básicos de equilibrio químico. ■

### Referencias

- Brouillard, R., Markakis, P., eds. *Anthocyanins as Food Colors*. Academic Press: New York, 1982.
- Camm, E.L., Towers, G.H., Phenylalanine ammonia-lyase, *Photochemistry*, 12, 961-973, 1978.
- Forster, M., Plant pigments as acid-base indicators-An exercise for the junior high school, *Journal Chemical Education*, 55, 107, 1978.
- Heines, V., The vegetable chameleons, *J. Chem. Educ.*, 49, 605, 1972.
- Ishikura, N., A survey of anthocyanins in fruits of some angiosperms. I, *Bot. Mag*, 88, 41-45, 1975.
- Ishikura, N., Sugahara, K., A survey of anthocyanins in fruits of some angiosperms. II, *Bot. Mag*, 92, 157-161, 1979.
- Mebane, R. C., Rybolt, T.R., Edible Acid-Base Indicators, *J. Chem. Educ.* 62, 285, 1985.
- Tan, S.C., Relationships and interactions between phenylalanine ammonia-lyase, phenylalanine ammonia-lyase inactivating system and anthocyanin in apples, *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 104, 581-586, 1979.
- Timberlake, C.F., Bridle, P., The anthocyanins of apples and pears: the occurrence of acyl derivatives, *J. Sci. Food Agric.*, 22, 509-513, 1971.
- Williams, M., Hrazdina, G., Wilkinson, M.M., Sweeney, J.G. and Iacobucci, G., High-pressure liquid chromatographic separation of 3-glucosides, 3,5-diglucosides, 3-(6-O-p-coumaryl)glucosides and 3-(6-O-p-coumarylglycoside)-5-glucosides of anthocyanidins, *J. Chromatogr.*, 155, 389-398, 1978.
- Wulf, L.W. and Nagel, C.W., High-pressure liquid chromatographic separation of anthocyanins of *Vitis vinifera*, *Am. J. Enol. Vitic.*, 29, 42-49, 1978.