

DICKIE  
\$5000

Ho Be  


UNIVERSIDAD DE MONTERREY.

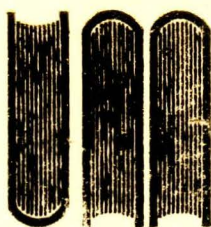
ESTUDIO DEL RESORCINOL COMO REACTIVO PARA LA DETERMINACION  
ESPECTROFOTOMETRICA DE SACAROSA

MONTERREY, N.L.

DICIEMBRE DE 1976

UNIVERSIDAD DE MONTERREY

DIVISION DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS



UNIVERSIDAD  
DE MONTERREY

*clasif.*  
040.54  
G934e  
1976

LICENCIATURA EN QUIMICA CON ESPECIALIDAD  
EN QUIMICA INDUSTRIAL

*Título*  
ESTUDIO DEL RESORCINOL COMO REACTIVO  
PARA LA DETERMINACIÓN  
ESPECTROFOTOMÉTRICA DE SACAROSA

SEMINARIO DE EVALUACION FINAL

*Autor*  
MELBA ALICIA GUERRA ARENAS

BIBLIOTECA  
UNIVERSIDAD DE MONTERREY

MONTERREY, N. L.

DICIEMBRE DE 1976

040.54  
6054c  
1176

800269

A mis padres, Sr. Oscar Luis Guerra G. y Sra. Alicia Arenas de Guerra

A mis hermanos Marcela Eugenia, Oscar Luis, Mauricio Esteban y Alejandra Ra.

A mis abuelos Sr. Santos Arenas González y Sra. Clementina G. de Arenas,

Sra Rita G. de González

A mis tios Sr. Armando Navarro O. y Sra. Rosalba Arenas de Navarro

A mis primos

A Edgardo J. Caballero Jaramillo

Al Ing. Aureliano García Fernández, por su dirección en el presente  
trabajo.

REPORTE DEL SEMINARIO DE EVALUACION FINAL.

PRESENTADO POR

MELBA ALICIA GUERRA ARENAS.

## I N D I C E

	<i>página</i>
1.- Introducción . . . . .	1
2.- Materiales y Métodos	
a) Estudio de la reacción . . . . .	2
b) Preparación de la curva . . . . .	6
3.- Tabulación de resultados y análisis matemático . . . . .	7
4.- Discusión . . . . .	15
5.- Conclusión . . . . .	16
6.- Resumen . . . . .	17
7.- Bibliografía . . . . .	18

## INTRODUCCION

Debido a que no se cuenta con métodos para la determinación de -- sacarosa, en el presente trabajo se ha tratado de establecer una curva de calibración para el espectrofotómetro Coleman Jr 2, mediante la cual se relacionen la concentración de sacarosa presente en una muestra, con el porcentaje de transmitancia que reporta el aparato.

Este método se basa en la reacción de la fructosa con el resorcinol en presencia de ácido clorhídrico, conocida como la reacción de Seliwanoff.



## 2.- MATERIALES Y METODOS.

### a) Estudio de la reacción.

Las variables que se controlaron en esta técnica fueron:

- Longitud de onda óptima a la cual se hicieron todas las lecturas.
- Concentración de la solución madre de sacarosa.
- Concentración de ácido clorhídrico.
- Concentración de resorcinol.
- Tiempo de hidrólisis de la sacarosa.
- Tiempo de reacción con el resorcinol.
- Temperatura a la cual se hidroliza la sacarosa.
- Temperatura a la cual reaccionan fructosa y resorcinol.
- Enfriamiento de las soluciones antes de efectuar las lecturas.
- Tiempo de reposo de las soluciones antes de efectuar las lecturas.

La longitud de onda óptima se obtuvo al hacer un barrido del espectro visible con el espectrofotómetro DBGT de Beckman.

Se estudió una técnica alcalinizando el medio con carbonato de so dio y agregando unas gotas de alcohol etílico, con resultados negativos. Las lecturas a concentraciones mayores de 1% de sacarosa no son reproducibles y no siguen la ley de Beer-Lambert. Esta téc nica proporciona lecturas no reproducibles, aún variando las condiciones de la reacción.

Se estudió una técnica donde se utilizaba el resorcinol en medio alcohólico, con resultados negativos. A un mismo valor del porcentaje de transmitancia (% T) le corresponden dos concentraciones distintas de sacarosa.

Para encontrar la concentración de la solución madre de sacarosa, se probó con una solución al 40%, la cual no se pudo disolver completamente. Con una solución al 30% la sacarosa se disuelve difícilmente. El estándar más concentrado preparado con esta solución precipita. El mínimo valor que se logró obtener del % T fue de 44%.

Con la solución al 20% no se tuvo ningún problema de precipitación o de resultados poco reproducibles.

Se estudiaron tiempos de hidrólisis y de reacción con resorcinol a temperatura de 80°C, usando estándares preparados con la solución madre de sacarosa al 20%, 2 ml de HCl al 25% y 1 ml de solución acuosa de resorcinol al 1%. Los resultados se encuentran en las tablas 1 y 2.

	Sacarosa:	0.5 ml	15 ml
5 minutos		60% T	93% T
10 minutos		51% T	87% T

Tabla 1: tiempos de hidrólisis

Se escogió 10 minutos de hidrólisis.

	Sacarosa:	0.5 ml	15 ml
5 minutos		37% T	67.5% T
10 minutos		precipita	63% T

Tabla 2 : tiempos de reacción con resorcinol

Se escogió el tiempo de 5 minutos, ya que con 10 se produce la precipitación del estándar más diluido.

Para tratar de ampliar el rango del % T se variaron las concentraciones del ácido y del resorcinol. Se observó que mientras mayor cantidad de ácido estuviera presente, se producía mayor intensidad de color. El efecto del resorcinol es el contrario: mientras mayor sea la cantidad presente, el color disminuye.

A temperatura de  $80^{\circ}\text{C}$ , 10 minutos de hidrólisis y 5 minutos de reacción con el resorcinol, efectuando las variaciones arriba mencionadas se obtuvieron los siguientes resultados:

Sacarosa:	1 ml
2 ml HCl, 2 ml resorcinol	69% T
1 ml HCl, 1 ml resorcinol	50% T

Tabla 3

Como se puede observar, no se obtuvo el resultado deseado, por lo que se procedió a variar tiempos de hidrólisis y de reacción con el resorcinol, variando también las cantidades de HCl y resorcinol agragadas.

Sacarosa:	1 ml
2 ml HCl, 2 ml resorcinol	48% T
1ml HCl, 1 ml resorcinol	75% T

Tabla 4: 5 minutos de hidrólisis y 10 minutos de reacción con resorcinol.

No se obtuvo la ampliación del rango del % T, por lo que se procedió a cambiar la temperatura, factor que no se había variado en las determinaciones anteriores.

La temperatura a la cual se trabajó en las determinaciones anteriores fue de  $80^{\circ}\text{C}$ . Ahora la temperatura es de  $94^{\circ}\text{C}$ . Se obtuvieron los siguientes resultados:

Sacarosa:	1 ml
2 ml HCl, 1 ml resorcinol	precipita
2 ml HCl, 2 ml resorcinol	54% T
1 ml HCl, 1 ml resorcinol	70% T

Tabla 5: Resultados obtenidos con 5 minutos de hidrólisis y 5 minutos de reacción con el resorcinol. Se escogió 2 ml de HCl y 2 ml de resorcinol.

Sacarosa:	1 ml
5 minutos	51% T
10 minutos	35% T

Tabla 6: Resultados obtenidos con 5 minutos de reacción con resorcinol, variando tiempos de hidrólisis.

Sacarosa:	1 ml
5 minutos	33.5% T
10 minutos	precipita

Tabla 7: Resultados obtenidos con 10 minutos de hidrólisis variando tiempos de reacción con el resorcinol.

De los anteriores datos experimentales, se deduce que las condiciones óptimas para esta reacción son: temperatura de  $94^{\circ}\text{C}$ , 10 minutos de hidrólisis, 5 minutos de reacción con el resorcinol.

Las concentraciones empleadas de HCl y resorcinol fueron respectivamente 25% y 1% .

b) Preparación de la curva.

Como resultado de la investigación y control de las variables, la técnica consiste en lo siguiente:

Se tomó una cantidad conocida de la solución madre de sacarosa al 20%, se le agregaron 2 ml de HCl al 25%. Se hidrolizó en baño maría por 10 minutos. Los estándares se pusieron en el baño de agua cuando ésta hubo alcanzado la temperatura de  $96^{\circ}\text{C}$ . Se observó que en todos los estándares que se hidrolizaron la temperatura descendía hasta  $86^{\circ}\text{C}$ , subía los 5 primeros minutos hasta  $90^{\circ}\text{C}$  y en los 5 minutos restantes llegaba hasta  $94^{\circ}\text{C}$ .

Una vez pasados los 10 minutos de hidrólisis, se sacaron los estándares del baño de agua y se les agregó 2 ml de resorcinol al 1%. Se pusieron nuevamente en el baño de agua durante 5 minutos; durante este tiempo la temperatura bajó hasta  $86^{\circ}\text{C}$  y subió a  $90^{\circ}\text{C}$ . Se enfrían con agua de la llave durante 5 minutos. Se añoran a 100 ml y se dejan reposar 10 minutos, al cabo de los cuales se leen a una longitud de onda de 480 nm en el espectrofotómetro previamente calibrado con un blanco. Este se prepara con 2 ml de HCl y 2 ml de agua.

El rango de sacarosa que se usó fue de 3 a 10 ml de la solución madre.

### 3.- TABULACION DE RESULTADOS.-

Cada punto que aparece en la gráfica, es el resultado del promedio de once lecturas de cada estándar.

Los resultados se encuentran en la página 8.

Con los datos obtenidos se hizo un estudio matemático de la reacción. Se calcularon los valores de la varianza, que se define como el cuadrado de la desviación típica. La desviación típica es una medida de dispersión y representa las desviaciones de cada uno de los números del promedio.

Se obtuvo también el coeficiente de correlación  $r$ . Este dato da una idea acerca de qué tan relacionadas están dos variables, en este caso la concentración  $y$  el % T. El valor de  $r$  puede ir desde  $-1$  hasta  $1$  y mientras más cerca se encuentre de sus valores extremos, más relación existe entre las dos variables. Cuando se obtiene un valor positivo, se dice que la correlación es directa y que el valor de  $y$  se incrementa cuando el de  $x$  se incrementa. Cuando se obtiene un valor negativo, la correlación es inversa y el valor de  $y$  decrece cuando el de  $x$  aumenta.

Cuando los puntos parecen encontrarse cerca de una recta, existe correlación lineal y los datos se ajustan a esa recta encontrando su ecuación mediante el método de mínimos cuadrados, que es el que menor error de ajuste presenta. Se obtienen los valores de  $'y'$  calculados con la ecuación y se obtiene su porcentaje de desviación de los datos originales, lo cual nos da una idea de qué tan bueno fue el ajuste.

## SACAROSA

3 ml	4 ml	5 ml	6 ml	7 ml	8 ml	9 ml	10 ml
25	30	40	49.5	57	65	75	79
27	30	40	48	59	68	74	80.5
25	34	40	52	59	69	75	80
24.5	34	40	49	59	66	76	84
26	32	40	50	56	64	76	83
27.5	31	41	52	57.5	64	72	82
24.5	31	42	49	59.5	63	77	85
25	33	42	50	58.5	63	78	84
26	33	43	53	61	65	76	83
24	29	38	53	59	64	75	81
24	29	40	49	55	65	75	82
0.6gr%	0.8gr%	1.0gr%	1.2gr%	1.4gr%	1.6gr%	1.8gr%	2.0gr%

% T

$$s^2 = \frac{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}{n - 1}$$

Varianza.-

El % T se representa como la  $y$ , la concentración de sacarosa en gramos % es  $x$ . Como nos interesa la dispersión del % T sustituimos los valores de  $y$  en los correspondientes de  $x$  en la fórmula.

3 ml	$y^2$	4 ml	$y^2$	5 ml	$y^2$
25	625	30	900	40	1600
27	729	30	900	40	1600
25	625	34	1156	40	1600
24.5	600.25	34	1156	40	1600
26	676	32	1024	40	1600
27.5	756.25	31	961	41	1681
24.5	600.25	31	961	42	1764
25	625	33	1089	42	1764
26	676	33	1089	43	1849
24	576	29	841	38	1444
<u>24</u>	<u>576</u>	<u>29</u>	<u>841</u>	<u>40</u>	<u>1600</u>
278.5	7064.75	346	10918	446	18102

$$(\sum y)^2 = 77562.25$$

$$s^2 = \frac{7064.75 - \frac{7051.11}{10}}{10}$$

$$s^2 = 1.36$$

$$(\sum y)^2 = 119716$$

$$s^2 = \frac{10918 - \frac{10883.27}{10}}{10}$$

$$s^2 = 3.47$$

$$(\sum y)^2 = 198916$$

$$s^2 = \frac{18102 - \frac{18083.27}{10}}{10}$$

$$s^2 = 1.37$$



10

6 ml	$y^2$	7 ml	$y^2$	8 ml	$y^2$
49.5	2450.25	57	3249	65	4225
48	2304	59	3481	68	4264
52	2704	59	3481	69	4761
49	2401	59	3481	66	4356
50	2500	56	3136	64	4096
52	2704	57.5	3306.25	64	4096
49	2401	59.5	3540.25	64	4096
50	2500	58.5	3422.25	63	3969
53	2809	59	3481	63	3969
53	2809	61	3721	65	4225
<u>49</u>	<u>2401</u>	<u>55</u>	<u>3025</u>	<u>65</u>	<u>4225</u>
554.5	27983.25	640.5	37368.75	716	46642

$$(\sum y)^2 = 307470.25$$

$$s^2 = \frac{27983.25 - 27951.84}{10}$$

$$s^2 = 3.14$$

$$(\sum y)^2 = 410240.25$$

$$s^2 = \frac{37368.75 - 37294.57}{10}$$

$$s^2 = 7.42$$

$$(\sum y)^2 = 512656$$

$$s^2 = \frac{46642 - 46605.09}{10}$$

$$s^2 = 3.69$$

9 ml	$y^2$	10 ml	$y^2$
75	5625	79	6241
74	5476	80.5	6480.25
75	5625	80	6400
76	5776	84	7056
76	5776	83	6889
72	5184	82	6724
77	5929	85	7225
78	6084	84	7056
76	5776	83	6889
75	5625	81	6561
<u>75</u>	<u>5625</u>	<u>82</u>	<u>6724</u>
829	62501	903.5	74245.25
$(\sum y)^2 = 687241$		$(\sum y)^2 = 816312.25$	
$s^2 = \frac{62501 - 62476.45}{10}$		$s^2 = \frac{74245.25 - 74210.20}{10}$	
$s^2 = 2.45$		$s^2 = 3.50$	

Todos los valores de la varianza obtenidos indican que la dispersión en cada serie se encuentra dentro de los límites aceptables.

Coefficiente de correlación  $r$ .

$$r = \frac{n \sum xy - (\sum x)(\sum y)}{[n \sum x^2 - (\sum x)^2][n \sum y^2 - (\sum y)^2]^{1/2}}$$

$n$  = número de datos

$x$  = gramos % de sacarosa

$y$  = % T

$x$	$y$	$x^2$	$y^2$	$xy$
0.6	25.31	0.36	640.60	15.19
0.8	31.45	0.64	989.10	25.16
1.0	40.54	1.00	1643.50	40.54
1.2	50.41	1.44	2541.17	60.50
1.4	58.23	1.96	3390.73	81.52
1.6	65.09	2.56	4236.71	104.14
1.8	75.36	3.24	5679.13	135.65
<u>2.0</u>	<u>82.14</u>	<u>4.00</u>	<u>6746.98</u>	<u>164.28</u>
10.4	428.53	15.2	25867.92	626.97

$$r = \frac{8(626.97) - (10.4)(428.53)}{\sqrt{[8(15.2) - 108.16][8(25867.92) - 183637.96]}}$$

$$r = \frac{559.05}{559.66} = 0.999$$

El valor obtenido de  $r$  demuestra que existe mucha relación entre la concentración  $y$  el % T. Se hace la corrección de los valores - obtenidos por el método de los mínimos cuadrados.

$$y = a_0 + a_1x$$

Ecuación de la recta

$$a_0 = \frac{(\sum y)(\sum x^2) - (\sum x)(\sum xy)}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$x =$  gr % en la muestra

$y =$  % T

$n =$  número de datos

Utilizando los datos de la página 12 y sustituyendo en la ecuación:

$$a_0 = \frac{(428.53)(15.2) - (10.4)(626.97)}{8(15.2) - 108.16} = \frac{-6.83}{13.44} = -0.508$$

$$a_0 = -0.508$$

$$a_1 = \frac{n \sum xy - (\sum x)(\sum y)}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$= \frac{8(626.97) - (10.4)(428.53)}{8(15.2) - 108.16} = \frac{559.05}{13.44} = 41.596$$

Por tanto, la ecuación de la recta será:

$$y = -0.508 + 41.596x$$

Haciendo uso de esta ecuación, se obtienen los valores de  $y$  corre  
gidos:

$$y = -0.508 + 41.596x$$

$$y_1 = -0.508 + 41.596(0.6) = 24.45$$

$$y_2 = -0.508 + 41.596(0.8) = 32.77$$

$$y_3 = -0.508 + 41.596(1.0) = 41.09$$

$$y_4 = -0.508 + 41.596(1.2) = 49.41$$

$$y_5 = -0.508 + 41.596(1.4) = 57.73$$

$$y_6 = -0.508 + 41.596(1.6) = 66.05$$

$$y_7 = -0.508 + 41.596(1.8) = 74.36$$

$$y_8 = -0.508 + 41.596(2.0) = 82.68$$

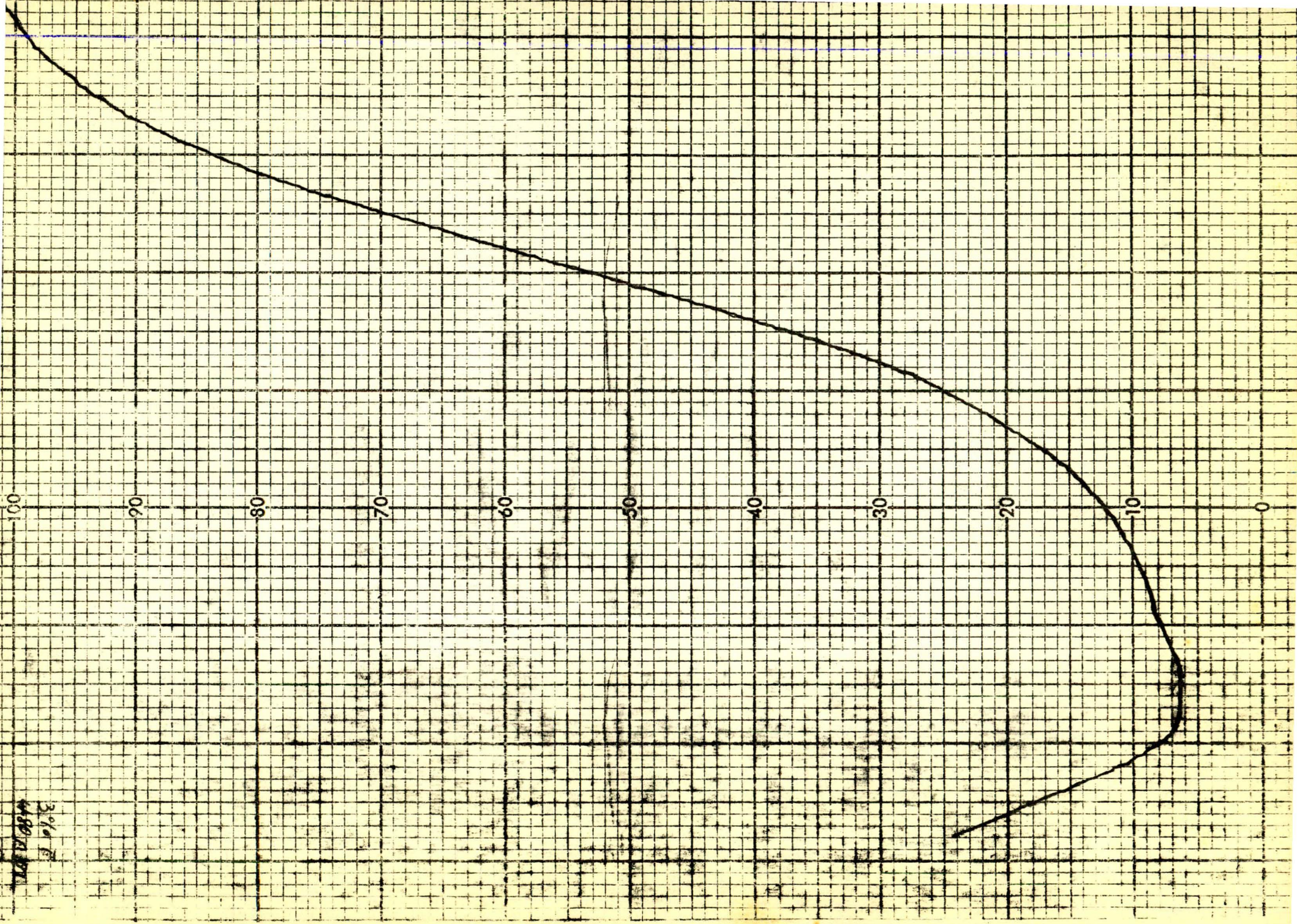
Para comparar los valores de  $y_{real}$ , que son los datos experimentales y los valores de  $y_{calculada}$ , que son los obtenidos mediante la ecuación, se calcula el porcentaje de desviación (% D) con la siguiente fórmula:

$$\% D = \frac{y_{calculada} - y_{real}}{y_{real}} \times 100$$

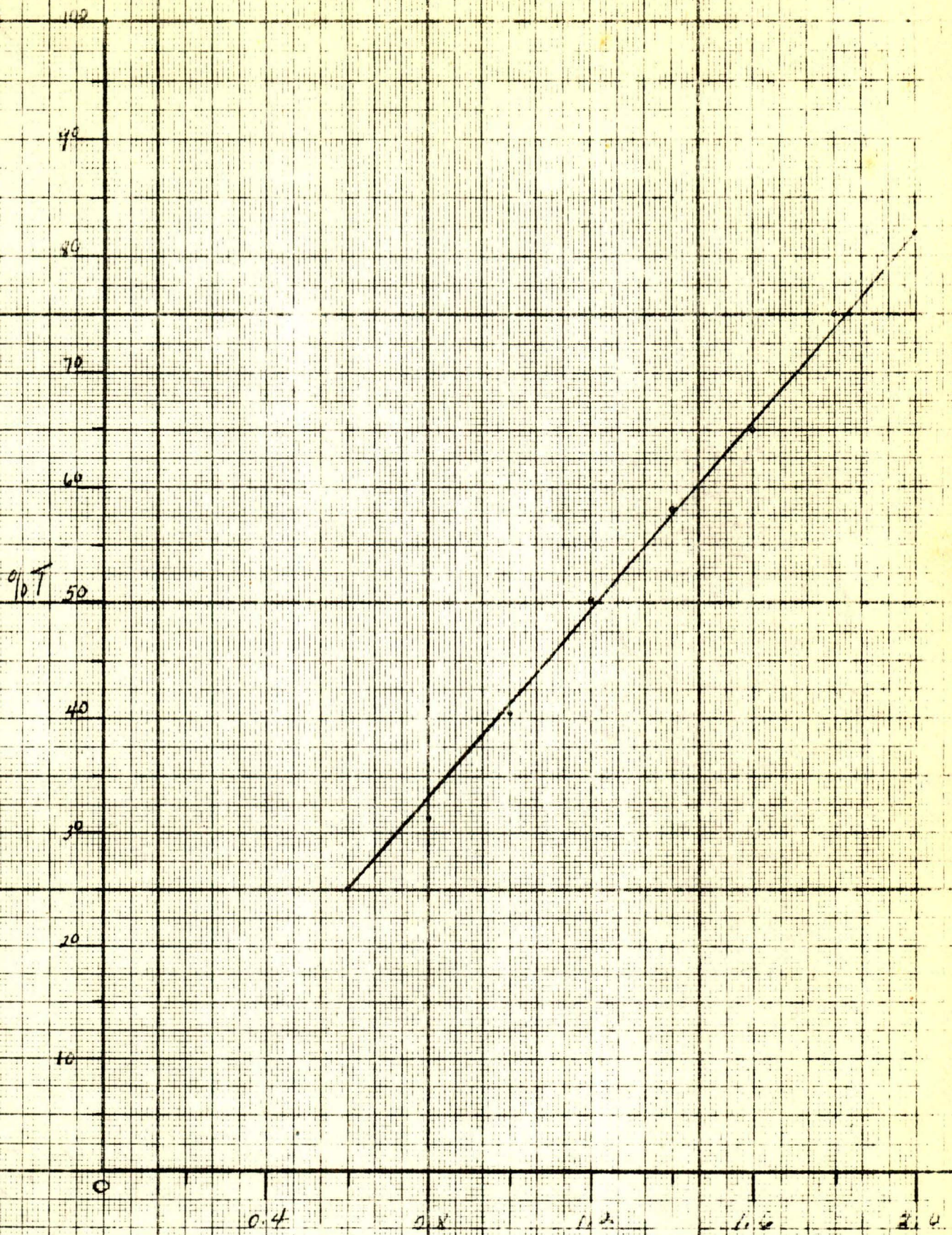
$y_{real}$	$y_{calculada}$	% D
25.31	24.45	-3.40
31.45	32.77	4.20
40.54	41.09	1.36
50.41	49.41	-1.98
58.23	57.73	-0.86
65.09	66.05	1.47
75.36	74.36	-1.33
82.14	82.68	0.66
		<u>15.26</u>

$$\text{Promedio \% de desviación} = \% D = \frac{15.26}{8} = 1.91$$

El promedio % de desviación indica que es mínima la desviación de los puntos obtenidos experimentalmente, y los calculados a partir de la ecuación, por lo que el ajuste hecho, es muy bueno.



3.66 E  
488.1.101

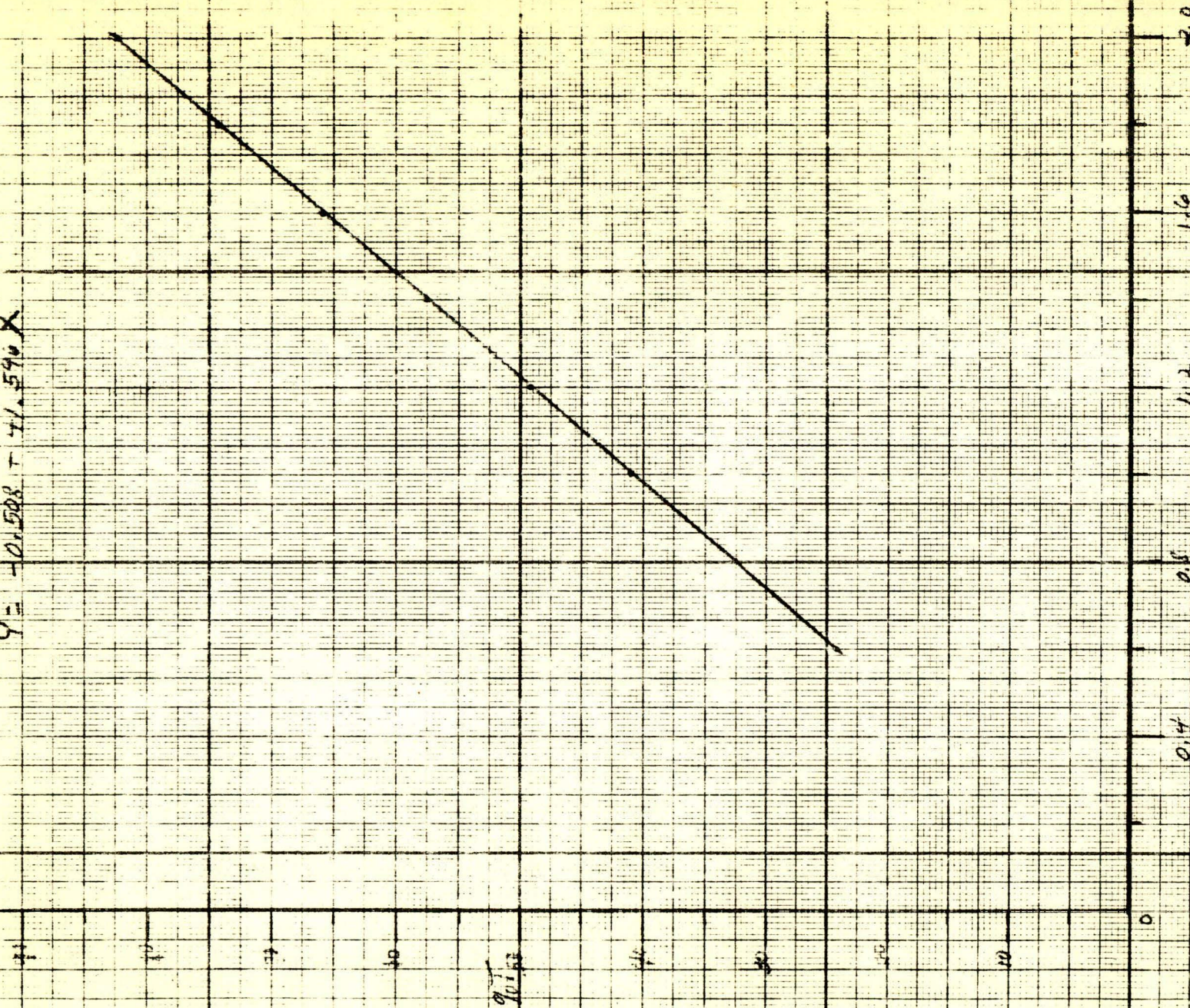


Concentración de sacarosa (gr %)

Datos experimentales

Diciembre 25

$$Y = -0.508x + 11.596x$$



CONCENTRACION DE SACAROSA (gr %)

• Datos corregidos

Diciembre - 76



#### 4.- DISCUSION.-

La longitud de onda óptima corresponde al mínimo % T. Para obtenerla se usaron concentraciones arbitrarias.

No se obtienen resultados positivos al trabajar con soluciones más concentradas de sacarosa, ya que las lecturas no siguen la ley de Beer-Lambert por lo que es imposible establecer una curva de calibración con ellas.

La concentración de ácido es un factor muy importante, ya que a medida que aumenta su concentración, el color aumenta también.

Con el resorcinol se observó que a mayor concentración presente, el color disminuye.

Es recomendable que al seguir esta técnica se controle la temperatura para que disminuya y luego aumente exactamente igual, pues de lo contrario se corre el riesgo de obtener lecturas erróneas correspondientes a una concentración que no es la real.

El enfriamiento que se da a las soluciones después de que la fructosa ha reaccionado con el resorcinol, debe ser lo menos brusco posible porque puede inducir a errores en las lecturas, según se ha comprobado.

Se observó que a medida que aumenta la concentración de sacarosa, el % T aumenta también.

Es importante dejar reposar las soluciones antes de leerlas exactamente 10 minutos porque la transmitancia aumenta poco a poco a medida que pasa el tiempo.

### 5.- CONCLUSIONES.-

Esta técnica requiere de mucha exactitud en todos sus pasos.

Da muy buenos resultados dentro de un rango pequeño, de 0.6 a 2.0 gramos %, lo cual presenta el inconveniente de que si la muestra tiene una alta concentración de sacarosa, se tendrán que hacer -- muchas diluciones.

No contando con ningún método para la determinación de sacarosa, no se pueden establecer comparaciones. Por otra parte, siendo el promedio de desviación de 1.91 puede sugerirse el empleo de esta técnica ya que los usados hasta ahora son indirectos y pueden tener un error mayor.

6.- RESUMEN.-

Se hizo un estudio sobre el resorcinol como reactivo para la determinación espectrofotométrica de sacarosa, con resultados positivos dentro de un rango pequeño.

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

a) *Sugar Analysis*

C. A. Browne, Ph. D.

John Wiley & Sons

New York, (1972)

b) *Handbook de Química Analítica*

Meites

Tercera Edición

Van Nostrand

Princeton, N.J. (1953)

c) *The Journal of Biological Chemistry*

Volumen 107, página 15

1934

d) *Estadística*

Murray R. Spiegel, Ph. D.

Serie de Compendios Schaum

Libros McGraw-Hill

México, (1973)

e) *Nomografía y Ecuaciones Empíricas*

Dale S. Davis

Segunda Edición

Compañía Editorial Continental, S.A.

México, (1965)

800269

## FECHA DE DEVOLUCION

El último sello marca la fecha tope para ser devuelto este libro.

Vencido el plazo, el lector pagará **5.00** peso por cada día que pase.

Plata 153,314

~~18 MAR. 1977~~

~~27 MAR. 1977~~

~~31 MAR. 1977~~

2 ~~10 FEB. 1980~~

9 ~~10 FEB. 1980~~

1 ~~10 FEB. 1980~~

22 ~~ABR. 1982~~