

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



PROPUESTA PARA LA OBTENCIÓN DE EXTRACTOS A SER UTILIZADOS COMO
INDICADORES ÁCIDO-BASE EN VALORACIONES DE MEDIO ACUOSO Y NO
ACUOSO A PARTIR DE *Bixa orellana Linn.* (ACHIOTE), E, *Indigofera
suffruticosa Mill* (AÑIL).

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR
THANIA GISSELLA BENÍTEZ LÒPEZ

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIATURA EN QUÍMICA Y FARMACIA

SEPTIEMBRE 2008

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMÉRICA.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR.

MSc. RUFINO ANTONIO QUEZADA SÁNCHEZ

SECRETARIO.

LIC. DOUGLAS VLADIMIR ALFARO CHÁVEZ

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

DECANO.

LIC. SALVADOR CASTILLO ARÉVALO

SECRETARIA.

MSc. MORENA LIZETTE MARTÍNEZ DE DÍAZ

COMITÉ DE TRABAJO DE GRADUACIÓN

COORDINADORA GENERAL:

Lic. María Concepción Odette Rauda Acevedo.

ASESORA DE ÁREA DE CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS, COSMÉTICOS Y VETERINARIOS:

MSc. Rocío Ruano de Sandoval

ASESORA DE ÁREA DE GESTIÓN AMBIENTAL EN TOXICOLOGÍA Y QUÍMICA LEGAL:

Licda. María Luisa Ortiz de López

DOCENTES DIRECTORES.

Lic. Arturo García Mazzini

Lic. Digna Padilla de García

AGRADECIMIENTOS

Al Creador por haber iluminado mi mente y mi camino, con mucha sabiduría e inteligencia en cada paso en mi carrera.

A mis padres por haber sido el roble de apoyo y protección en cada momento de mi vida estudiantil.

A mis hermanos por su apoyo, comprensión y cariño en todo el tiempo de mi carrera.

Al comité de trabajos de graduación Lic. María Concepción Odette Rauda Acevedo. Coordinadora general. MSc. Rocío Ruano de Sandoval. Licda. Maria Luisa Ortiz de López. Asesores de área. Lic. Arturo García Manzini y Lic. Digna Padilla de García Docentes Directores. Por su orientación en el proceso de elaboración de mi tesis de graduación, por sus consejos que me llevaron a culminar mi carrera con éxito.

Al resto de docentes por haber compartido conmigo toda su sabiduría y conocimientos a lo largo de mi carrera.

Al personal de laboratorio, Administrativo y demás por brindarme su colaboración durante el desarrollo de mi formación académica.

A mis amigos y compañeros que estuvieron siempre apoyándome durante toda mi carrera.

THANIA BENITEZ

DEDICATORIA

Al Creador por haberme bendecido, protegido, y guiado mi camino. Y hacer realidad la meta de culminar mi carrera.

A mí querido padre Dr. Manuel Benítez Vidal (In Memory) por su apoyo, sus conocimientos, su gran sabiduría y su amor incondicional para mí.

A mí querida madre Licda. Luz Estrella López por su amor, sacrificio y su alto grado de inteligencia para orientarme en el camino de mi vida.

A mi Hermano gemelo Marcel Hassan Benítez que durante toda mi vida me ha apoyado y cuidado en todos los momentos.

A mi Hermana Katia Benítez que siempre me ha apoyado, escuchado y me ha dado muy buenos consejos durante lo largo de mi vida.

A mi Hermana Ana Maria Escobar por darme apoyo, animo y ayudarme en muchos momentos de mi carrera.

A mis mejores amigos que siempre me han apoyado moral y físicamente. Siempre los recordare con mucho cariño.

CON TODA MI DEDICACIÓN THANITA

INDICE

Pag

Resumen

Capitulo I

1.0 Introducción

xx

Capitulo II

2.0 Objetivos

24

Capitulo III

3.0 Marco teórico

27

3.1 Conceptos de Acidez y Basicidad

27

3.1.1 Teoría de Arhenius

27

3.1.2 Teoría de Lewis

27

3.1.3 Teoría de Brönsted-Lowry

27

3.2 Fuerza de Ácidos y Bases

28

3.3 Concepto de pH

29

3.4 El Producto Iónico del Agua

30

3.5 Soluciones Amortiguadoras

30

3.6 Valoraciones Volumétricas

31

3.7 Punto de Equivalencia y Punto Final

31

3.8 Tipos de Análisis Volumétricos

31

3.8.1	Titulaciones Acido Base en Medio Acuoso	32
3.8.1.1	Soluciones Valorantes Estándares	32
3.8.1.2	Curva de Titulación	33
3.8.1.3	Clasificación de titulaciones acido-base en medio acuoso.	33
3.8.2	Titulaciones Acido Base en Medio no Acuoso	34
3.9	Clasificación de disolventes.	35
3.9.1	Disolventes Anfipróticos	35
3.9.2	Disolventes Inertes o Aproticos	35
3.9.3	Disolventes Básicos pero no Ácidos	36
3.10	Elección de Disolventes	36
3.11	Titulantes o Valorantes	36
3.12	Factores que afectan las valoraciones Acido Base en medios no Acuosos	37
3.12.1	Propiedades ácido base del disolvente	37
3.12.2	Constante de autoprotólisis del disolvente	37
3.12.3	Constante dieléctrica del disolvente	37
3.13	Indicadores ácido-base para la determinación del punto final	38
3.13.1	Cualidades de un indicador	38
3.13.2	Propiedades ideales	39
3.13.3	Clasificación de los indicadores.	39
3.14	Indicadores ácido-base sintéticos	39
3.15	Indicadores naturales	40

3.16 Selección de indicadores	41
3.17 Papel indicador de pH	41
3.18 Escala de pH.	42
3.19 Efecto del solvente no acuoso durante la reacción	42
3.20 Descripción botánica (<i>Bixa orellana Linn</i>)	43
3.20.1 Clasificación científica	43
3.20.2 Origen	44
3.20.3 Principios activos	44
3.20.4 Carotenoides	45
3.20.5 El Fruto	47
3.20.6 Características Físico-químicas principales de la semilla de Achiote	47
3.21 Angiospermas	48
3.22 El colorante	49
3.22.1 Bixina y Norbixina	50
3.23 Extracción del colorante	50
3.24 Descripción botánica (<i>Indigofera suffruticosa Mill</i>)	52
3.24.1 Clasificación científica	52
3.24.2 Origen	53
3.24.3 Localización del Añil en El Salvador	54
3.24.4 Descripción	54
3.24.5 Principio Activo	55
3.25 INDIGO (Carmín de Índigo)	55

3.26 Extracción del añil	56
Capitulo IV	
4.0 Diseño metodológico	58
4.1 Tipo de estudio	58
4.2 Investigación bibliográfica	58
4.3 Investigación de campo	58
4.3.1 Universo	58
4.3.2 Tipo de muestreo	59
4.3.3 Punto de muestreo	59
4.3.4 Tamaño de la muestra	59
4.4 Proceso de extracción	60
4.5 Pruebas fitoquímicas para la identificación de Carotenoides	66
presentes en la especie <i>Bixa orellana Linn</i> (ACHIOTE)	
4.5.1 Ensayo general para Carotenoides.	66
4.5.2 Identificación de Bixina por Cromatografía de capa fina.	66
4.6 Pruebas fitoquímicas para la identificación de alcaloides	
presentes en la especie, <i>Indigofera suffruticosa Mill</i> (AÑIL).	67
4.6.1 Dragendorff (prueba específica para indol)	67
4.6.2 Reacción con Wagner	67
4.7 Escala de ph.	68
4.7.1 Prueba presuntiva.	68
4.7.2 Construcción de escala de pH	69
4.8 Papel indicador.	70

4.9 Titulaciones acido base en medio acuoso.	71
4.9.1 Titulaciones (HCL 0.1M) vrs (NaOH 0.1M)	71
4.9.2 Titulación (CH ₃ COOH) vrs (NaOH 0.1M)	72
4.10 Titulaciones acido base en medio no acuoso.	72
4.10.1 Titulaciones hidróxido de sodio (0.1M) en metanol vrs Acido perclórico (0.1M) en ácido Acético.	72
4.11 Titulaciones acido base en medio acuoso utilizando indicador sintético (fenolftaleina).	73
4.11.1 Titulaciones (HCL 0.1M) vrs. NaOH 0.1M	73
4.11.2 Titulación (CH ₃ COOH 0.1M) vrs. NaOH 0.1M	74
Capitulo V	
5.0 Resultados	76
Capitulo VI	
6.0 Conclusiones	106
Capitulo VII	
7.0 Recomendaciones	110
Bibliografía	
Anexos	

INDICE DE CUADROS

Pág.

Cuadro N°

N°1	Clasificación de las titulaciones Ácido base en medio acuoso.	3
N° 2	Composición de la semilla de <i>Bixa orellana Linn</i> (ACHIOTE).	49
N° 3	Estructuras químicas de los pigmentos Bixina y Norbixina presentes en la especie <i>Bixa orellana Linn.</i>	50
N°4	Extractos obtenidos de <i>Bixa orellana Linn.</i> (ACHIOTE), y sus intensidades de color obtenidos.	77
N°5	Extractos obtenidos de <i>Indigofera suffruticosa Mill</i> (AÑIL), y sus intensidades de color obtenidos.	78
N°6	Resultados de las Pruebas Fitoquímicas realizadas a el extracto etanolico de <i>Bixa orellana Linn.</i> (ACHIOTE) para la identificación de la especie.	81
N°7	Resultados de las Pruebas Fitoquímicas realizadas a el extracto etanolico de <i>Indigofera suffruticosa Mill</i> (AÑIL) para la identificación de la especie.	83
N°8	Viraje e intensidad de coloración de los extractos obtenidos a partir de <i>Bixa orellana Linn.</i> (ACHIOTE), E, <i>Indigofera suffruticosa Mill</i> (AÑIL) con los diferentes solventes de extracción y los métodos de extracción en medio acuoso.	84

Nº 9	Viraje e intensidad de coloración de los extractos obtenidos a partir de <i>Bixa orellana Linn.</i> (ACHIOTE), E, <i>Indigofera suffruticosa Mill</i> (AÑIL) con los diferentes solventes de extracción y los métodos de extracción en medio no acuoso.	86
Nº10	Variación de color de el extracto etanolico de <i>Indigofera suffruticosa Mill</i> (AÑIL) frente a las soluciones buffer a distintos valores de pH.	88
Nº11	Variación de color de el extracto etanolico de <i>Bixa orellana Linn.</i> (ACHIOTE) frente a las soluciones buffer a distintos valores de pH.	89
Nº 12	Valores de pH obtenidos mediante la adición del titulante en la valoración Ácido Fuerte (HCL 0.1M) vrs Base Fuerte NaOH (0.1M) con extracto etanolico de <i>Bixa orellana Linn.</i> (ACHIOTE) como indicador.	93
Nº13	Valores de pH obtenidos mediante la adición del titulante en la valoración Ácido Débil (CH ₃ COOH 0.1M) vrs Base Fuerte (NaOH 0.1M) con extracto etanolico de <i>Bixa orellana Linn.</i> (ACHIOTE) como indicador.	96
Nº14	Valores de pH obtenidos mediante la adición del titulante en la valoración Ácido Fuerte (HCL 0.1M) vrs Base Fuerte NaOH (0.1M) con extracto etanolico de <i>Indigofera suffruticosa Mill</i> (AÑIL) como indicador.	98

Nº15 Valores de pH obtenidos mediante la adición del titulante
en la valoración Ácido Débil (CH_3COOH 0.1M) vrs Base
Fuerte (NaOH 0.1M) con extracto etanolico de ***Indigofera***
suffruticosa Mill (AÑIL) como indicador.

101

INDICE DE FIGURAS

Pág.

Figura N°

N° 1 Escala de pH	42
N°2 Fotografía de la especie <i>Bixa Orellana Linn</i> (ACHIOTE).	43
N°3 Estructura Molecular de β -caroteno	46
N°4 Fotografía de la especie <i>Indigofera suffruticosa Mill</i> (AÑIL)	52
N°6 Coloración que presenta la indigotina en textil.	55
N°7 Estructura Molecular de Índigo.	55
N°8 Set de trece tubos de ensayo rotulados del 1 al 13 para la construcción de escala de pH.	69
N°9 Proceso de impregnación del papel filtro con extracto.	70
N°10 Extractos obtenidos a partir de <i>Bixa orellana Linn.</i> (ACHIOTE), E, <i>Indigofera suffruticosa Mill</i> (AÑIL), con los diferentes solventes en el proceso de maceración.	76
N°11 Extractos obtenidos a partir de <i>Bixa orellana Linn.</i> (ACHIOTE), E, <i>Indigofera suffruticosa Mill</i> (AÑIL), con los diferentes solventes por el Método Soxhlet.	77
N°12 Prueba fitoquímica para la identificación general de carotenoides utilizando extracto etanólico de <i>Bixa orellana Linn.</i> (ACHIOTE).	79
N°13 Prueba fitoquímica utilizando reactivo de Dragendorff con extracto etanólico de <i>Indigofera suffruticosa Mill</i> (AÑIL).	82
N°14 Prueba fitoquímica utilizando reactivo de wagner con extracto etanólico de <i>Indigofera suffruticosa Mill</i> (AÑIL), en la	83

identificación de alcaloides.

- Nº15** Escala de pH obtenida a partir del extracto obtenido por Método 88
de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR de ***Indigofera***
suffruticosa Mill.
- Nº16** Escala de pH obtenida a partir del extracto obtenido por Método 89
de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR de ***Bixa orellana***
Linn. (ACHIOTE).
- Nº17** Papel indicador utilizando extracto obtenido por Método 90
de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR, de ***Bixa orellana***
Linn. (ACHIOTE) en proceso de secado.
- Nº18** Viraje de color de papel indicador utilizando extracto obtenido 91
por Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR, de ***Bixa***
orellana Linn. (ACHIOTE).
- Nº19** Papel indicador utilizando extracto obtenido por Método de 91
Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR, de ***Indigofera***
suffruticosa Mill (AÑIL) en proceso de secado.
- Nº20** Viraje de color de papel indicador utilizando extracto obtenido 92
por Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR,
de ***Indigofera suffruticosa Mill*** (AÑIL).
- Nº22** Grafico de la titulacion Ácido Fuerte (HCL 0.1M) vrs Base 95
Fuerte NaOH (0.1M) con extracto etanolico de ***Bixa orellana***
Linn. (ACHIOTE) como indicador ácido-base.
- Nº24** Grafico de la titulacion Ácido Débil (CH₃COOH 0.1M) vrs Base 97

Fuerte (NaOH 0.1M) con extracto etanolico de ***Bixa orellana***
Linn. (ACHIOTE) como indicador ácido-base.

Nº26 Grafico de la titulacion Ácido Fuerte (HCL 0.1M) vrs Base Fuerte 100
NaOH (0.1M) con extracto etanolico de ***Indigofera***
suffruticosa Mill (AÑIL) como indicador ácido-base.

Nº28 Grafico de la titulacion Ácido Débil (CH₃COOH 0.1M) vrs. 102
Base Fuerte NaOH (0.1M) con extracto etanolico de
Indigofera suffruticosa Mill (AÑIL) como indicador
ácido-base.

RESUMEN

En la presente investigación se realizó la propuesta para la obtención de extractos a ser utilizados como indicadores ácido-base en valoraciones de medio acuoso y no acuoso a partir de ***Bixa orellana* Linn. (ACHIOTE)**, e, ***Indigofera suffruticosa* Mill (AÑIL)**, para lo cual las muestras fueron sometidas a un proceso de extracción por método de maceración y por método de soxhlet utilizando para cada uno de ellos diferentes solventes de extracción. Luego se realizaron pruebas fitoquímicas para la identificación de los principios activos característicos en las dos especies en estudio, después de haberlas identificado se procedió a la realización de una prueba presuntiva tanto en medio acuoso como en medio no acuoso, que tenía como finalidad observar el viraje de coloración de cada uno de los extractos frente a una solución ácida y a una solución básica, obteniendo que los extractos que presentaron los mejores virajes de coloración en dicha prueba en medio acuoso fueron los extractos obtenidos por Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR de ***Indigofera suffruticosa* Mill (AÑIL)** y el extracto obtenido por Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR, ***Bixa orellana* Linn. (ACHIOTE)**, los cuales fueron elegidos para la construcción de una escala de pH 1 al 13 en medio acuoso utilizando para ello soluciones bufferes con pH del 1 al 13, seguidamente se elaboró papel indicador utilizando los mismos extractos, y verificando su utilidad observando su viraje de color frente a una solución ácida y básica.

Y en la prueba presuntiva de medio no acuoso, no se obtuvieron resultados útiles ya que la mayoría de los extractos presentaban una gran inestabilidad formando precipitados o turbidez frente a los pH tan altos que presentan las soluciones utilizadas en medios no acuosos.

Luego para verificar el funcionamiento de los extractos como indicadores ácido base en valoraciones de medio acuoso, se realizaron una serie de titulaciones ácido base potenciométricas, en las cuales se tomó la lectura de pH en cada una de las adiciones del titulante de cada valoración, dichos datos fueron procesados para la obtención de los valores de la segunda derivada y de esa forma poder graficar $\Delta^2 \text{pH} / \Delta^2 V$ vrs Volumen de titulante agregado (mL), con la finalidad de encontrar el punto de equivalencia de la titulación, y de esa forma se pudo verificar la utilidad de estos extractos como indicadores ácido base en medio acuoso. Observando que estos extractos si pueden ser utilizados como indicadores ácido base en valoraciones de medio acuoso.

Se realizó además una comparación entre un indicador sintético y uno de origen natural (extractos obtenidos de las especies en estudio), realizando una serie de titulaciones ácido-base para medio acuoso utilizando fenolftaleína como indicador sintético, luego se observaron y se compararon los resultados obtenidos, evaluando tanto de viraje neto de coloración e intensidad que presentan los indicadores tanto sintético como natural en el punto final de la titulación, y de esa forma se concluyó que estos dos tipos de indicadores si pueden ser comparados bajo estos dos parámetros a evaluar (viraje neto de coloración e intensidad).

Y para finalizar se recomienda realizar un estudio de estabilidad para los extractos obtenidos de ***Bixa orellana* Linn.** (ACHIOTE), y de ***Indigofera suffruticosa* Mill** (AÑIL), y así poder establecer condiciones adecuadas para la conservación de estos, tanto microbiológica, como físico-química.

CAPITULO I
INTRODUCCION

1.0 INTRODUCCION

La química analítica es una ciencia que consiste en un conjunto de métodos aplicados en campos científicos y que ha desempeñado un papel fundamental en el desarrollo de la ciencia, en esta se han utilizado indicadores de tipo sintético o natural con el fin de verificar cambios de pH por variación de color en un proceso de titulación.

Las titulaciones (o Valoraciones) son un procedimiento en el que se añade una solución patrón a la de un analito hasta que se considere completa la reacción entre el analito y el reactivo. Un ejemplo de dichas valoraciones son las titulaciones Acido-Base, en las cuales se hace indispensable el uso de indicadores para la determinación del punto final que es un fenómeno experimental, evidenciado por un cambio de color o viraje del indicador, que señala que se ha alcanzado el punto final.

Los indicadores ácido-base no son mas que bases o ácidos orgánicos débiles. Un indicador ácido-base existe en dos formas; la forma ácida posee un color, y por la pérdida de un protón se convierte a la forma básica que tiene color diferente.

En el presente trabajo de investigación se realizó la obtención de extractos a ser utilizados como indicadores acido-base en valoraciones en medio acuoso y no acuoso a partir de las especies ***Bixa orellana Linn*** (ACHIOTE), y de ***Indigofera suffruticosa Mill*** (AÑIL) existentes en el territorio salvadoreño.

Para la obtención de dichos extractos a ser utilizados como indicadores ácido-base se utilizó una metodología analítica que describe un proceso de extracción de los diferentes extractos que contienen los carotenoides e indol que se encuentran en las especies *Bixa orellana Linn* (ACHIOTE), y de *Indigofera suffruticosa Mill* (AÑIL), las cuales fueron sometidas a un proceso de extracción por maceración, utilizando solventes de extracción y muestra en las siguientes proporciones: Etanol 90% AR-Muestra (2.5,3), y Etanol al 90% AR levemente acidificado con ácido tartárico al 2%-Muestra (2.5-3) .Y en el proceso de extracción por método de soxhlet se utilizarán las siguientes proporciones de solvente de extracción y muestra: Etanol 90% AR-Muestra (2.5,1), Etanol al 90% AR levemente acidificado con ácido tartárico al 2%-Muestra (2.5-1) , y en metanol 100% AR- Muestra (2.5,1).

Con los extractos que se obtuvieron, se realizó una prueba presuntiva para observar la intensidad en el viraje de color de cada uno de los extractos frente a una solución ácida y básica y quien presento las mejores características físico-químicas observables como mayor intensidad en la coloración, y viraje de coloración más neto se utilizó en la construcción de una escala de pH del 1-13 (con excepción de los extractos metanólicos) utilizando para ello soluciones búferes (pH 1-13), y además se elaboró con él, papel indicador para poder observar el viraje de color en diferentes soluciones en función del pH en medio acuoso.

Luego se realizaron valoraciones ácido fuerte-base fuerte, ácido débil-base fuerte; para poder comprobar de esta forma la utilidad de los extractos que fueron utilizados como indicadores acido-base de origen naturales en medio acuoso, y una valoración

ácido-base para el medio no acuoso. Además que de esta manera también pudo comparar la efectividad de estos indicadores naturales con respecto al de origen sintético más utilizado (fenolftaleína).

CAPITULO II

OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

- 2.1.1 Proponer la obtención de extractos a ser utilizados como indicadores acido-base en valoraciones de medio acuoso y no acuoso a partir de: *Bixa orellana Linn* (Achiote) e *Indigofera suffruticosa Mill* (Añil).

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 2.2.1 Identificar las especies para la obtención de extractos a ser utilizados como indicadores acido-base presentes en las especies ***Bixa orellana Linn*** (Achiote) e ***Indigofera suffruticosa Mill*** (Añil).
- 2.2.2 Obtener los extractos a partir de ***Bixa orellana Linn.*** (Achiote), e, ***Indigofera suffruticosa Mill*** (Añil), a ser utilizados como indicadores ácido-base en valoraciones de medios acuosos y no acuosos, utilizando como solventes: Etanol 90% AR, Etanol 90% AR levemente acidificado con ácido tartárico 0.1M y metanol 100% AR.
- 2.2.3 Elaborar escala de pH y papel indicador a partir de los extractos obtenidos de las especies ***Bixa orellana Linn.*** (Achiote), e, ***Indigofera suffruticosa Mill*** (Añil) para valoraciones acido-base de medio acuoso, en la escala de pH del 1-13.

2.2.4 Utilizar como indicadores los extractos obtenidos de ***Bixa orellana Linn.*** (Achiote), e, ***Indigofera suffruticosa Mill*** (Añil), en valoraciones ácido-base en medio acuoso y no acuoso.

2.2.5 Comparar la efectividad de los extractos de ***Bixa orellana Linn.*** (Achiote), e, ***Indigofera suffruticosa Mill*** (Añil), utilizados como indicadores ácido-base en valoraciones en medio acuoso y no acuoso, con indicadores ácido-base de origen sintético más utilizados.

CAPITULO III
MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEORICO

3.1 Conceptos de Acidez y Basicidad

3.1.1 Teoría de Arrhenius⁽⁷⁾:

Acido: Sustancia que libera Hidrogeno (H^+) cuando se disuelve en agua.

Base: Sustancia que libera iones Hidróxido (OH^-) cuando esta disuelta en agua.

3.1.2 Teoría de Lewis⁽¹⁾:

Acido: Es una sustancia que puede aceptar un par de electrones de una base en la formación de un enlace químico covalente.

Base: Es una sustancia que puede donar un par de electrones a un ácido para formar un enlace covalente.

3.1.3 Teoría de Brönsted-Lowry⁽¹⁾:

Acido: Se define como una especie química que tiene tendencia a perder o donar un protón.

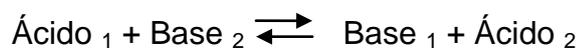
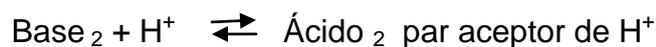
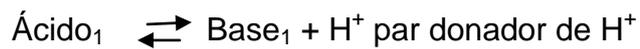
Base: Es una sustancia que tiene tendencia a aceptar o recibir un protón.

Brönsted agrupa a los ácidos y bases con el nombre de protolitos, en donde un acido es una sustancia protogénica y una base una sustancia protofílica. Y a la reacción entre ambos la llamo reacción protolítica. A los solventes capaces de donar o aceptar un protón los llamo Protoactivos, y a los que no liberan protones les llamo Apróticos. ⁽³⁾

3.2 Fuerza de Ácidos y Bases ⁽¹⁾

Un protón no puede existir solo en solución, independientemente del medio que lo rodee. En medios acuosos, el ión Hidrogeno se combina con una o más moléculas de agua y forma el ión Hidrónio (H_3O^+). Asimismo, todas las demás especies iónicas al igual que especies moleculares están hidratadas en medio acuoso.

Debido a la inexistencia de protones libres, es que las reacciones Acido-Base ocurren por transferencia de un protón de un ácido a una base de Brönsted Lowry, para formar la base conjugada del ácido y el ácido conjugado de la base.



En general, la fuerza de una solución ácida ó básica se relaciona con su grado de ionización.

Entonces tenemos que ⁽³⁾:

Los ácidos fuertes son totalmente solubilizados por el disolvente



AH= Acido

S= Solvente

También las bases fuertes están totalmente solubilizadas en un disolvente ácido.



O en agua.



B= Base

SH= Disolvente ácido

La fuerza de los ácidos y bases en medios acuosos puede ser medida por indicadores al igual que en medios no acuosos, esto por las diferentes intensidades de color producido. (7)

3.3 Concepto de pH

El conocimiento de la actividad de los iones H^+ de una solución permite saber la acidez o alcalinidad de un medio.

El pH se define como: El logaritmo negativo de la actividad de iones Hidrogeno de una solución. (3)

$$pH = -\log a_{H^+}$$

El logaritmo negativo proporciona un número positivo para el pH que, de otro modo, sería negativo debido al pequeño valor de la concentración de H^+ .

Con el logaritmo negativo de la concentración de iones Hidróxidos de una disolución, se obtiene una escala de pOH, análoga a la de pH. (7)

$$pOH = -\text{Log} (OH^-)$$

Se define una escala de pH en el agua. (3)



Con la expresión de la constante del producto iónico del agua:

$$K_w = (H^+) (OH^-) = 1 \times 10^{-14}$$

$$-\text{Log} (H^+) - \text{Log} (OH^-) = 14$$

$$\text{pH} + \text{pOH} = 14$$

3.4 El Producto Iónico del Agua (7)

La constante de equilibrio de la autoionización del agua es:

$$K_{eq} = (H^+) (OH^-) / (H_2O)$$

Debido a que sólo una fracción muy pequeña de moléculas de agua esta ionizada, la concentración de agua (H_2O) permanece prácticamente sin cambio.

$$K_{eq}(H_2O) = K_w = (H^+)(OH^-)$$

K_w Se denomina Constante del producto iónico, que es el producto de las concentraciones molares de los iones H^+ y OH^- a una determinada temperatura.

En el agua pura a 25°C las concentraciones de los iones H^+ y OH^- son iguales y se encuentra que $(H^+) = 1 \times 10^{-7} \text{ M}$ y $(OH^-) = 1 \times 10^{-7} \text{ M}$. Entonces:

$$K_w = \frac{(H^+) (OH^-)}{(H_2O)} = 1 \times 10^{-14}.$$

3.5 Soluciones Amortiguadoras (5)

Una solución Amortiguadora esta formada por una mezcla de un ácido débil y su base conjugada (sal del ácido) o de una base débil con su ácido conjugado (sal de la base) que resiste los cambios de pH.

3.6 Valoraciones Volumétricas ^{(1),(5)}.

La titulación (o Valoración) es un procedimiento en el que se añade un patrón a la solución de un analito hasta que se considere completa la reacción entre el analito y el reactivo. La valoración Volumétrica es un procedimiento en donde se mide el volumen de una solución de concentración conocida que se necesita para reaccionar por completo con el analito.

3.7 Punto de Equivalencia y Punto Final ⁽¹⁾

El punto de equivalencia de una valoración se define teóricamente como el punto en el cual la cantidad de valorante agregado es estequiométricamente equivalente a la sustancia objeto de la determinación.

El punto final es un fenómeno experimental, como el cambio de color o viraje de un indicador, que señala que se ha alcanzado el punto de equivalencia. Raramente el punto final coincide con el punto equivalente teórico, aunque se prefiere que la diferencia entre ambos sea lo más mínima posible.

3.8 Tipos de Análisis Volumétricos ⁽⁵⁾

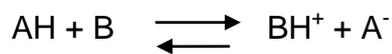
Los métodos por titulación se utilizan en muchos análisis de rutina porque son rápidos, convenientes, precisos y se pueden automatizar fácilmente.

Los análisis volumétricos a estudiar son:

- Titulaciones Acido Base en medio Acuoso
- Titulaciones Acido Base en medio no Acuoso

3.8.1 Titulaciones Acido Base en Medio Acuoso ⁽¹⁾.

En este tipo de titulación la solución muestra puede describirse como una solución de un ácido, una base o una mezcla de ambos. El solvente que se utiliza es agua. En una titulación ácido base se lleva a cabo una reacción de neutralización y esta consiste en poner a reaccionar cantidades equivalentes de ácido y de base. La saturación estequiométrica de la solución que se analiza se hace con una solución de carácter opuesto, según:



3.8.1.1 Soluciones Valorantes Estándares ⁽¹⁾

El análisis de soluciones que contienen componentes ácidos y básicos por medio de valoraciones ácido-base requiere disponer de soluciones valorantes estándares. No todos los ácidos y bases son igualmente adecuados para la preparación de soluciones estándares, de modo que es necesario examinar cuáles son los ácidos y las bases preferibles como reactivos estándares. De los ácidos comunes, sólo el ácido clorhídrico, ácido nítrico, ácido perclórico y ácido sulfúrico son ácidos fuertes ionizados en alto grado.

El ácido clorhídrico es el valorante preferido universalmente, probablemente por la pureza a la cual se comercializa y al poseer una larga vida en estantería. Las soluciones estándares de bases para aplicaciones generales suelen prepararse a partir de Hidróxido de sodio. En ocasiones se pueden utilizar hidróxido de potasio e hidróxido bórico. El hidróxido de sodio y el hidróxido de potasio son igualmente

buenos, pero este último es más caro que el primero por lo que habitualmente se escoge el hidróxido de sodio.

3.8.1.2 Curva de Titulación ^{(1),(3)}

La curva de titulación en una reacción ácido-base consiste en una gráfica del pH en función del volumen agregado.

Las curvas de titulación teóricas son de particular importancia porque proporciona información en cuanto a la factibilidad y posible exactitud de una valoración y son extremadamente útiles para la elección del indicador que habrá de emplearse para observar del punto final.

La curva de titulación tiene las siguientes características:

- El punto de equivalencia es el punto de inflexión de la curva.
- El valor del pH en el punto de equivalencia depende de la naturaleza de la sal que se forme en la reacción.
- El valor del pH inicial depende de la concentración inicial del ácido o de la base en la solución.
- El valor del pH final depende de la concentración del reactivo titulante en exceso.
- La amplitud del intervalo de pH en las proximidades del punto de equivalencia es mayor cuando las soluciones están concentradas.

3.8.1.3 Clasificación de las titulaciones ácido base en medio acuoso ⁽³⁾

Se consideran tres tipos:

Cuadro N°1 Clasificación de las titulaciones ácido base en medio acuoso.⁽³⁾

TIPO DE TITULACIÓN	CARACTERISTICAS DE LA SAL OBTENIDA EN LA REACCIÓN
Titulación ácido fuerte/base fuerte	La sal que se obtiene no presenta carácter ácido ni básico; el pH es neutro.
Titulación ácido débil/base fuerte	La sal que se obtiene de la reacción que presenta un carácter de base débil, el viraje se efectúa en un medio débilmente alcalino.
Titulación base débil/ácido fuerte	La sal que se obtiene presenta un carácter de ácido débil, el punto de equivalencia está en un medio débilmente ácido.

3.8.2 Titulaciones Acido Base en Medio no Acuoso ⁽⁵⁾.

Las valoraciones ácido-base en medios no acuosos se apoyan únicamente en la teoría de Bronsted – Lowry que permite determinar la cantidad de protones que se intercambian durante una reacción de neutralización ácido-base. Por lo tanto en estas, se dan reacciones de neutralización en disolventes que no son el agua. ⁽⁹⁾

En las titulaciones ácido base en medio no acuoso, se dan reacciones de neutralización en disolventes que no son el agua.

Esto tiene ventajas en varias circunstancias:

- Cuando el compuesto que se analiza es insoluble en agua.

-Cuando la fuerza del ácido o la base es muy débil en agua y, por consecuencia, el punto de equivalencia es difícil de mostrar.

-Cuando no se diferencia lo suficiente el carácter ácido-básico de las moléculas en medio acuoso.

-Los reactivos o productos reaccionan con el agua.

Es muy importante mencionar que los portadores de la acidez no son los iones hidrógenos o protones, sino los protones solvatados liberados del correspondiente ácido. En el agua el portador es el ión hidrónio H_3O^+ , en el etanol el ión $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}_2^+$, en el metanol es el CH_3OH_2^+ , etc.

En disolventes no acuosos, como el metanol y ácido acético glacial, la naturaleza del ion hidrógeno y de otros solutos no se encuentran totalmente caracterizados. Sin embargo, es evidente que el protón este solvatado en cierta medida.

3.9 Clasificación de disolventes

Se pueden clasificar en tres grupos ⁽¹⁾:

3.9.1 Disolventes Anfipróticos: Estos poseen propiedades ácidas y básicas como el agua. Este tipo de solventes sufren autoprotolisis.

Ejemplos: Metanol, Etanol, Acido Acético y Etilendiamina.

3.9.2 Disolventes Inertes o Aproticos: Ellos no muestran propiedades de ácidos o base en medida apreciable, pues no tienen protones ionizables y apenas tienen tendencia a aceptar protones de otras sustancias.

Ejemplos: Cloroformo, Tetracloruro de carbono y Benceno.

3.9.3 Disolventes Básicos pero no Ácidos: Tienen una fuerte afinidad por los protones pero no son apreciablemente ácidos.

3.10 Elección de Disolventes ⁽³⁾

Para la elección de un disolvente adecuado para la muestra a estudiar se necesita tomar en cuenta las cualidades siguientes:

- Aumentar las propiedades ácido-básico de la molécula.
- Disolución del producto de la reacción.
- Ausencia de reacciones secundarias entre el disolvente y las moléculas a determinar.
- Deben ser poco tóxicos y baratos.

3.11 Titulantes o Valorantes ⁽¹⁾

La selección del valorante para una titulación ácido-base en medio no acuoso es tan importante como la selección del propio disolvente.

En valoraciones en disolventes básicos, la fuerza básica del valorante ha de ser comparable a la fuerza básica de la base conjugada del disolvente, es decir que, habrá de emplearse como valorante una sal de la base conjugada del disolvente, pues esta es la base más fuerte que podrá existir en un disolvente dado. Cuando se usan como disolventes alcoholes simples, como el metanol o etanol, para la determinación de ácidos carboxílicos, los Valorantes usuales son metóxido de sodio o etóxido de sodio.

3.12 Factores que afectan las valoraciones Acido Base en medios no Acuosos

(1)-

Entre los factores figuran:

3.12.1 Propiedades ácido base del disolvente

Efecto Nivelador: Es la capacidad que tiene el disolvente de llevar a un mismo nivel de acidez ó basicidad dos ácidos ó dos bases.

Capacidad de diferenciación: Capacidad del disolvente de diferenciar las fuerzas ácidas entre dos ácidos basado en el hecho de que su reacción con el disolvente llega a completarse en mayor grado.

3.12.2 Constante de autoprotólisis del disolvente

El intervalo útil de pH para un disolvente aumenta a medida que disminuye su constante de autoprotólisis, es decir, cuanto menor es la constante de autoprotólisis de un disolvente tanto mayor es el intervalo de fuerzas de ácido o de base que pueden existir en ese disolvente.

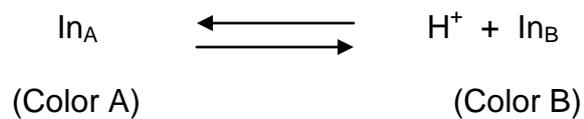
3.12.3 Constante dieléctrica del disolvente

En un disolvente con constante dieléctrica baja (como el ácido acético), los iones que se forman durante las reacciones permanecen unidos en pares de iones de signos opuestos.

En un disolvente con constante dieléctrica alta (como el agua), la disociación de los pares de iones es más considerable. Tal medio es favorable para mostrar un carácter ácido- básico cuando la reacción de neutralización produce iones de signos opuestos.

3.13 Indicadores ácido-base para la determinación del punto final ⁽¹⁾

Los indicadores ácido-base no son otra cosa que moléculas de un colorante orgánico. Un indicador ácido-base sirve como indicador de pH por el hecho de que existe en dos formas; la forma ácida posee un color, y por la pérdida de un protón se convierte a la forma básica que tiene color diferente. El equilibrio químico correspondiente es:



En donde In_A es la forma ácida del indicador color A e In_B es la forma básica del mismo indicador, la cual tiene un color diferente, B.

La constante del indicador es:

$$[\text{H}^+] / K_{\text{In}} = [\text{In}_A] / [\text{In}_B]$$

La sustancia In_A es de color A y, su intensidad ha de ser proporcional a la concentración de In_A en la solución. Igualmente, la sustancia In_B es de color B y, su intensidad del color B será una medida directa de la concentración de In_B presente en la solución.

La solución se verá de color A si la intensidad del color A es 10 tantos mayor que el color B. En cambio, si la intensidad del color B es 10 tantos mayor que la del color A. la solución se verá de color B.

3.13.1 Cualidades de un indicador ⁽³⁾

- Viraje neto, poca amplitud
- Reacción rápida y reversible
- Coloración sensible

3.13.2 Propiedades ideales ⁽²⁶⁾

- Posee carácter (ácido/base) mas débil que el analito
- Presente en concentraciones muy bajas que no interfieren con la curva de valoración.
- Produce cambios perceptibles y nítidos de color en el P.E.

3.13.3 Clasificación de los indicadores ⁽³⁾

Existen varios tipos de indicadores:

- Indicadores de un solo color: Que tiene una forma incolora y una forma coloreada.

Ejemplo: Fenolftaleína

- Indicadores de dos colores: Los que en las dos formas son coloreadas. El cambio de coloración puede ser más o menos progresivo. Ejemplo: Rojo de metilo.

- Indicadores mixtos: Se forman por la mezcla de un indicador y un colorante u otro indicador. Esto permite producir un viraje más marcado y por lo tanto más neto, modificar la zona de viraje del indicador y señalar la zona de viraje mediante un pre-indicador.

Otra clasificación:

3.14 Indicadores ácido-base sintéticos ⁽²⁶⁾

La segunda mitad del siglo XIX, fue el inicio de las grandes síntesis orgánicas, y como no podía ser menos, también los indicadores ácido base, que habían sido empleados como productos naturales, iban a ser sintetizados a partir de 1868.

El primero indicador en ser sintetizado fue la fenolftaleína, conseguida por Baeyer condensando el anhídrido del ácido ftálico (ortobencenodicarboxílico), con fenol, en 1871. De la fenolftaleína salieron otros muchos indicadores, potenciando los cambios de absorción al introducir derivados sulfonados y bromados, estudiados por Lubs y Clark a partir de 1915. Así aparecieron el rojo fenol, el azul de timol, la timolftaleína, el azul de bromotimol, azul de bromofenol y el cresol entre otros.

Antes, en 1859, el francés Verguin, había obtenido la fuchina, oxidando por casualidad la anilina con cloruro de estaño(IV), que también fue obtenida por Hofmann poco después. Este compuesto sería el punto de partida de otros indicadores con estructura de trifenilmetano, como el violeta de metilo, verde de metilo, el verde brillante, el verde malaquita. Caracterizados por tonalidades fuertes y brillantes a distintos pH. Otra ruta de síntesis de indicadores fue de los colorantes azoicos, que dio lugar al naranja de metilo (propuesto por Lunge en 1878).

Por lo general se suelen emplear en forma de sales sódicas, por ser solubles en agua. En caso contrario, se disolverían en etanol, lo cual tiene más inconvenientes a la hora de usarse, ya que la gota de alcohol tiende a extenderse y desparramarse contactando antes de tiempo con los diferentes medios.

3.15 Indicadores naturales ⁽²⁶⁾

Son compuestos orgánicos que se extraen de plantas poseen estructuras moleculares bastante complejas que presentan una especial particularidad: tienen un color si entran en contacto con un medio alcalino y otro color, muy diferente, si entran en contacto con un medio ácido.

3.16 Selección de indicadores ⁽³⁾

El indicador se escoge en función del pH en el punto de equivalencia. El intervalo de viraje debe estar en la zona de variación abrupta del pH alrededor del punto de equivalencia. Sin embargo el punto de equivalencia no está necesariamente dentro de la zona de cambio de coloración del indicador.

Para una neutralización ácido fuerte-base fuerte, la variación del pH alrededor del punto de equivalencia es muy abrupta y de gran amplitud. Diversos indicadores pueden ser convenientes.

Para una neutralización ácido débil-base fuerte o base débil-ácido fuerte, la elección del indicador debe ser muy cuidadosa: la zona de viraje del indicador debe estar lo más próxima posible al punto de equivalencia, de modo que se reduzca al mínimo el error en el volumen. La pendiente de la curva derecha es menos pronunciada. Además la variación del pH es menor.

En medio no acuoso, donde los indicadores son ácidos o bases, la posición de su viraje en la escala de acidez varía según el disolvente de titulación.

En disolventes ácidos se utilizan indicadores de carácter básico como por ejemplo: Cristal violeta, violeta de metilo.

De la misma manera, en disolventes básicos se utiliza el azul de timol ó la fenolftaleína. Los indicadores coloreados también pueden usarse en disolventes inertes.

3.17 Papel indicador de pH

El método para conocer la acidez o alcalinidad de un medio utilizando papel indicador es el más barato, pero es más inexacto que los otros. Por eso se dice que

este método es semi-cuantitativo, porque solo muestra algo cercano a lo que es el pH de una solución.

3.18 Escala de pH

La escala del pH es una representación del equilibrio entre los iones de hidrógeno (H_3O^+) y los iones de hidróxido (OH^-). Un pH bajo corresponde a una concentración alta de iones de hidrógeno; en otras palabras, entre más iones de hidrógeno haya presentes, menos iones de hidróxido habrá y más ácida será la solución y viceversa. Este concepto se ilustra en la abreviatura de la escala del pH:

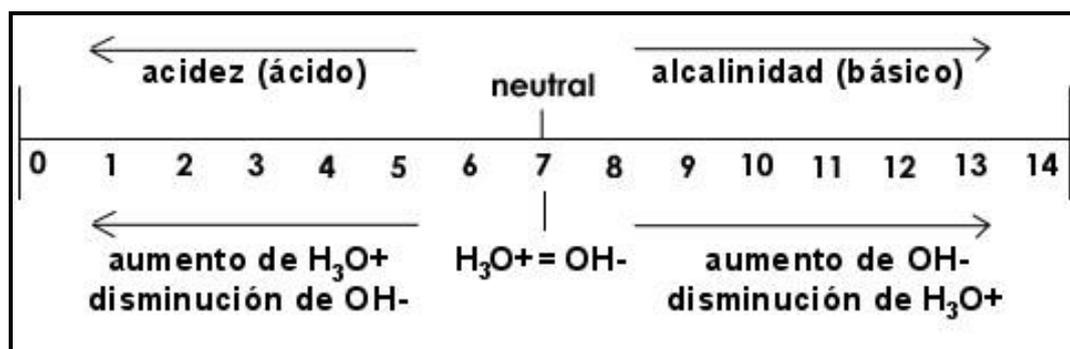


Figura N°1 Escala de pH ⁽³⁰⁾

3.19 Efecto del solvente no acuoso durante la reacción

El proceso de titulación en un medio no acuoso no tiene muchas diferencias con el acuoso. La naturaleza del solvente generalmente ejerce un efecto en las reacciones de neutralización, ya que al cambiar el solvente, pueden variar por completo los productos de un determinado conjunto de reactivos y en ciertos casos es posible que se invierta el sentido de la reacción. ⁽⁵⁾

3.20 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

- EL ACHIOTE

3.20.1 Clasificación científica:

Nombre común: **ACHIOTE** <http://www.interhiper.com/medicina/default1.htm>

Nombre Científico: *Bixa orellana* L.

Sub-División: **Angiosperma**

Clase: **Dicotiledónea**

Orden: **Parietales**

Familia: **Bixaceae**



Figura N°2 Fotografía de la especie *Bixa Orellana* Linn (ACHIOTE).

3.20.2 Origen

Bixa orellana Linn era cultivada en épocas precolombinas desde Brasil y Bolivia hasta México. El nombre popular, "achiote", es el más conocido en el comercio mundial y procedería de la palabra nahuatl "axiotl". Este vegetal sería nativo, según algunos autores, de una región del alto Amazonas en el Brasil, aunque otros lo dicen que es originario de una zona comprendida entre el centro de México y Panamá.⁽²³⁾

Descripción^(22,23)

El achiote (*Bixa orellana* Linn) es un árbol pequeño que pertenece a la familia botánica Bixaceae. Su origen es americano y más específicamente de las zonas tropicales. Su cultivo es ancestral (prehispánico) y se ha extendido a Asia y África. En el Perú crece en la zona amazónica y su nombre justamente se lo debe al descubridor del río Amazonas: Francisco de Orellana. La planta tiene una altura entre 3-5 m aunque algunos mencionan que puede llegar hasta 10 m. El tallo es cilíndrico recto y su base tiene entre 20-30 cm de diámetro. Las hojas son simples, alternas y de forma acorazonada, palmatinervadas, y tienen estípulas de color marrón rojizo y/o verde oscuro, miden entre 8-20 cm de largo, y 4-15 cm de ancho. Las flores son medianas, hermafroditas y actinomorfas, agrupadas en panículas terminales de color rosado o blanco, según la variedad.

3.20.3 Principios activos:⁽¹³⁾

- Carotenoides: Bixina, norbixina, metil-bixina, beta-caroteno, criptoxantina, luteína y zeaxantina., etc. Proteínas, azúcares, celulosa, grasas, vitamina A, B y C; calcio, fierro y fósforo.

-MucílagosTaninos.

Las semillas contienen:

- Lípidos
- Acidos :LinoleicoAlfa-linolénicoOleico.
- Aminoácidos:GlutamatoAspartatoLeucina.
- Cenizas: FósforoCalcio.HierroZinc.

Las hojas contienen:

- Flavonoides: Bisulfato de apigenina, glucósido de apigenina, bisulfato de hipolaetina,bisulfato de luteolina y diterpenos
- Acido gálico y pirogalol.
- Aceite esencial: Bixaganeno o iswarano.

Otros principios activos en el achiote son los carotenoides (vitamina A), vitaminas del complejo B, C, leuteína, pectina, norbixina, y glucósido de apigenina.

3.20.4 Carotenoides

Los carotenoides son pigmentos orgánicos que se encuentran de forma natural en plantas. Su color, que varía desde amarillo pálido, pasando por anaranjado, hasta rojo oscuro, se encuentra directamente relacionado a su estructura: Los enlaces dobles carbono-carbono interactúan entre sí en un proceso llamado conjugación. Mientras el número de enlaces dobles conjugados aumenta, la longitud de onda de la luz absorbida también lo que produce compuestos con una apariencia más rojiza.

Por ejemplo: β -caroteno

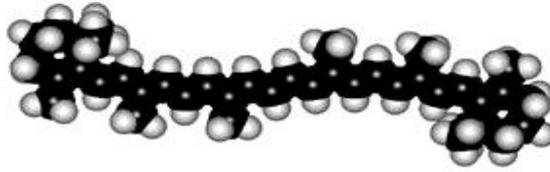


Figura N°3 Estructura Molecular de β -caroteno

Es importante mencionar que los carotenoides hidrocarbonados se denominan colectivamente como carotenos, y aquellos que contienen oxígeno se denominan xantofilas. Por lo cual, las xantofilas producen color amarillo, mientras que los carotenoides son anaranjados y rojizos.

Desde el punto de vista químico, pertenecen a la familia de los tetraterpenos, compuestos que se caracterizan por una estructura con 40 átomos de carbono, aunque no todos los carotenoides se ajustan estrictamente a esta regla.

Entre las propiedades físico-químicas más importantes de los carotenoides tenemos:

1. Absorben luz
2. Bloquean reacciones mediadas por radicales libres
3. Lipofílicos e insolubles en agua
4. Se unen a superficies hidrofóbicas.

Estos se encuentran formando parte importante en algunas estructuras de plantas, especialmente son más abundantes, y visibles, coloreando algunas raíces, frutos y flores. Se estima que la naturaleza produce aproximadamente 100 millones de toneladas de carotenoides al año.

Los carotenoides tienen mucha importancia en el área de la medicina por sus propiedades tales como; proteger las membranas de nuestras células y tienen importantes funciones relacionadas con la salud de nuestros ojos y membranas mucosas. Además ciertas hortalizas y tubérculos contienen carotenoides lo cual le da un valor nutricional importante. En el área de análisis fotoquímico estos han sido utilizados como compuestos representativos de familias de plantas.

3.20.5 El fruto ⁽¹⁵⁾

El fruto es una cápsula dehiscente o indehiscente, de forma redonda o hemiesférica, ovoide, elipsoidal o cónica, de 3 a 5 cm de largo y está cubierto de espínulas sedosas que dan el aspecto de cánulas delgadas y puntiagudas, también se encuentran cápsulas de superficie lisa o glabra. Cada fruto contiene de 10 a 40 semillas, las que pueden ser de forma cónica o triangular, de 3 a 4 mm de base y 3 a 4 mm de altura, las cuales están cubiertas por una membrana fina y blanquecina, debajo de esta se encuentra una capa roja y carnosa en donde se encuentran los pigmentos colorantes o tinte. Conforme madura el fruto aparecen en la superficie de las semillas en papilas rojas que llegan a cubrirlas por completo. El pigmento que se encuentra en las semillas constituye alrededor del 4-5% del peso total de las mismas.

3.20.6 Características Físicoquímicas principales de la semilla de Achiote:⁽⁸⁾

Las semillas son poliédricas, generalmente piramidales que se encuentran cubiertas por una membrana (arilo) pulposa, pegajosa, resinosa de color rojo o anaranjado.

El principal constituyente colorante de la semilla del achiote es la bixina, que se encuentra en la cubierta exterior de la semilla del fruto, representa mas del 80% de los pigmentos presentes, lo cual facilita su extracción, los componentes principales de la semilla de achiote son:

- Resina
- Orellina (Materia colorante amarilla)
- Bixina (Materia colorante roja) (80%)
- Aceite volátil y Aceite Graso.⁽⁸⁾

3.21 Angiospermas ⁽⁸⁾

Las angiospermas son plantas con flores y semillas caracterizadas por una doble fecundación y por la existencia de frutos cerrados.

Se entiende por fruto de las angiospermas el ovario con semilla madura al convertirse en fruto el ovario sufre en la angiosperma transformaciones extremas, cambio de consistencia y la coloración y ofrece gran riqueza morfológica. La hoja u hojas que integren el fruto junto a las semillas constituyen el pericarpo.

Los frutos son o bien seco, si aquel es maduro, membranoso, coriáceo ó leñoso, o bien carnosos si es blando. En unos casos el fruto maduro se abre y suelta las semillas, en otros no se abren jamás. Los primeros son frutos dehiscentes, los segundos indehiscentes.

3.22 El colorante ^(8,25)

Las semillas del achiote son procesadas para obtener pigmentos que ofrecen tonos que van desde el amarillo pálido hasta el naranja ladrillo. El principal componente del colorante de la semilla del achiote es la bixina, de color rojo oscuro. Químicamente es un ácido carotenoico de fórmula empírica $C_{25}H_{30}O_{41}$ que se presenta como isomero geométrico del tipo *cis*, pero que puede convertirse a su forma *trans*, más estable, es soluble en agua y ligeramente soluble en cloroformo, aceites vegetales y acetato de etilo, y propilenglicol. El pigmento de la semilla de achiote que se encuentra en la parte más externa tiene diferentes compuestos.

Cuadro N° 2 Composición de la semilla de *Bixa orellana Linn* (ACHIOTE).⁽⁸⁾

Composición	(g/100mg)
Proteína	12.3-13.2
Pectinas	0.23
Carbohidratos	39.91-47.90
Cenizas	5.44-6.92
Taninos	0.33-0.91
Pentosanos	11.35-14.97
Carotenoides	1.21-2.30
β-carotenos	6.8-11.30

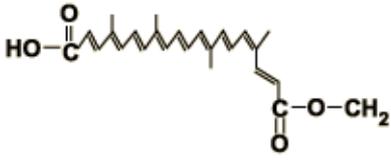
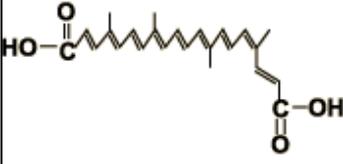
Al hervir la bixina en una solución de álcali, se forma una molécula de metanol y una sal dipotásica que por acidificación, produce el ácido dibásico *Norbixina* $C_{24}H_{28}O_4$, el cual es un pigmento carotenoide soluble en agua.⁽⁸⁾

3.22.1 Bixina y norbixina

La bixina se encuentra en forma cis, pero se transforma en la forma trans con los tratamientos térmicos utilizados habitualmente en la extracción del pigmento, con aceite caliente. También puede extraerse con disolventes como al acetona.

La norbixina tiene una estructura semejante, pero con los dos grupos ácidos libres. La nor-bixina es soluble solamente en medio alcalino, y se utiliza como sal sódica, de modo que al mezclar el colorante con los alimentos, que tienen pH ácido, precipita la forma no ionizada.⁽⁸⁾

Cuadro N° 3 Estructuras químicas de los pigmentos Bixina y Norbixina presentes en la especie **Bixa orellana Linn.**⁽⁸⁾

	
<p>Bixina</p> <p>Un pigmento carotenoide soluble en aceite que se forma naturalmente en la superficie de la semilla de <i>Bixa orellana</i> L. seed.⁽²³⁾</p>	<p>Norbixina</p> <p>Un pigmento carotenoide soluble en agua formado de bixina mediante hidrólisis alcalina.</p>

3.23 EXTRACCION DEL COLORANTE ⁽⁸⁾

Se conocen diferentes formas para la extracción del colorante de la semilla de achiote, algunas de las técnicas son las siguientes:

Las semillas son separadas de las capsulas maduras, se colocan en suficiente agua hirviendo con el fin que el tinte se desprendan mas fácilmente de estas; luego se separan las semillas y se deja fermentar la pasta una semana aproximadamente; se elimina el agua quedando solo la pasta permitiendo moldear el producto para darle una forma mas adecuada.

Otro método utilizado, consiste en machacar las semillas entre cilindros para formar una mezcla con el tinte del achiote a la masa resultante se le agrega una cantidad suficiente de agua y cuando sedimenta se le retira el agua clara y se deja hirviendo por dos o tres horas. Al retirar del fuego, se exprime bien por medio de una prensa para quitar el agua, y de esta manera la pasta del colorante queda lista para empacarla.

La extracción del pigmento a escala industrial se realiza con diferentes solventes como agua caliente, aceites vegetales, propilenglicol y álcali diluido que es el método más utilizado el cual consiste en:

Agregarle un álcali acuoso a las semillas de achiote, estas en presencia del álcali forman la base conjugada del álcali que son sales solubles en agua, lo cual hace posible extraer fácilmente el colorante. Las semillas se lavan con esta solución alcalina, el extracto y el lavado se acumulan y la solución roja oscura se neutraliza con un exceso de ácido mineral, el cual precipita el pigmento. Luego se filtra, se lava y el líquido sobrenadante se separa hasta obtener la masa colorante para secar. (8)

3.24 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

-EL AÑIL

3.24.1 Clasificación científica

Nombre científico: *Indigofera suffruticosa Mill.*

Nombre común: **Añil, angaschi, Añil-añil.**

Reino: **Plantae**

Clase: **Dicotiledónea Magnoliopsida**

Orden: **Fabales**

Familia: **Fabaceae**

Subfamilia: **Faboideae**

Género: **Indigofera**



Figura N°4 Fotografía de la especie *Indigofera suffruticosa Mill* (AÑIL)

3.24.2 Origen ⁽²⁶⁾.

EL añil tiene mucha importancia en la historia económica de Centroamérica, y constituye uno de los legados de nuestras altas culturas indígenas a la civilización mundial.

El índigo es un, material colorante que fue usado para teñir textiles en todos los países civilizados, y es de origen remoto. La información relativa a esta época indica que antes de utilizarse el añil en escala comercial en Europa, el colorante usado era llamado “pastel”, se extraía de diversas especies de plantas del género *Indigofera* conocidas en general con el nombre de jiquilite , y se usaba normalmente para teñir túnicas y ropajes sacerdotales. El Salvador y Guatemala destacaron por su vasta producción de añil (en particular cabe destacar el azul maya con que están pintados algunos murales de Bonampak, Chiapas) y al tener conocimiento sobre el añil, el comercio europeo puso resistencia violenta a su introducción. Sin embargo, la calidad superior del añil fue venciendo los obstáculos y se abrió paso hasta que se vendió libremente por el año 1737. Hasta mediados del siglo XVII, momento en el que comenzaron a descubrirse los colorantes sintéticos en Europa.

La utilidad de la planta se extendía hasta la medicina y el polvo del tronco o raíces aplicadas en forma de cataplasma a la cabeza de los niños les aplacaba el calor y los dolores. En realidad es difícil establecer si el añil se utilizaba antes de la llegada de los españoles, pero lo que sí es cierto, es que los mayas ya lo conocían en 1558.

3.24.3 Localización del Añil en El Salvador

El añil crece mejor en los terrenos bajos y cálidos, en tierras arenosas no muy húmedas, niveladas o con ligeras pendientes y con buen drenaje. Las zonas donde se concentró la producción añilera fueron: Santa Ana, Metapán, Sonsonate, Sensuntepeque, San Vicente, Olocuilta, Chalatenango, Tejutla, Opico, Ateos, San Salvador, Suchitoto, Cojutuepeque, Gotera, Usulután, San Miguel, Zacatecoluta y San Alejo. (26)

3.24.4 Descripción

El añil es un sub-arbusto de tallo erguido, de hojas compuestas generalmente de 5 a 10 pares de folíolos dispuestos de forma opuesta, de color verde claro, pubescente que pueden medir de 2 a 3,5 cm de largo y de 0,4 a 0,6 cm de ancho, hojuelas ovales y apenas pubescentes en el envés; presenta inflorescencia en racimos axilares más cortos que las hojas; tiene flores pequeñas de color rosado en racimos o espigas de hasta 5 cm de largo de color naranja rojizo. Legumbre lineal de hasta 2 cm de longitud y 2 mm de ancho. Y presenta un olor característico.

Esta especie produce el colorante añil o indigo, como algunas especies del Viejo Mundo. Fue cultivada para este fin en el México antiguo y colonial; todavía se cultiva localmente en algunas partes del país, y su importancia ha aumentado ligeramente en los últimos años por la demanda de colorantes naturales. (26)

3.24.5 Principio Activo.

El principal activo de esta especie se encuentra en las hojas, de las cuales se extrae una tintura con un distintivo color azul (índigo azul). Siendo el componente principal de este el *indican* que es un glucósido natural incoloro.

El *indican*, por un proceso especial se convierte en un índigo soluble que tiene la capacidad de teñir. El añil índigo (*indican*) no es soluble en agua y para teñir se necesita mezclar en un a solución alcalina. (26)

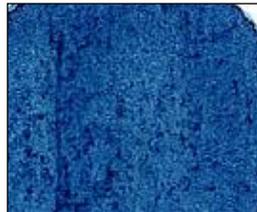


Figura N°6 Coloración que presenta la indigotina en textil.

3.25 INDIGO (Carmín de Índigo)

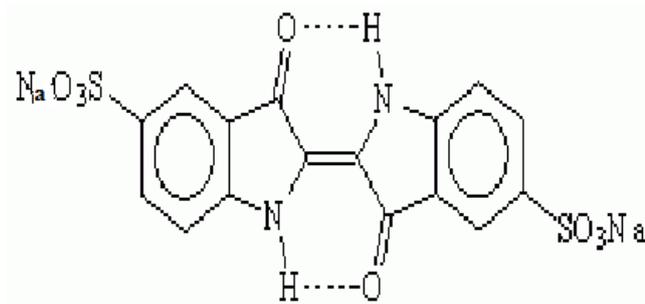


Figura N°7 Estructura Molecular de Índigo.

Fórmula: $C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$, **Color:** Azul, **Solubilidad:** soluble en agua, poco soluble en etanol.

3.26 EXTRACCIÓN DEL AÑIL ⁽²⁶⁾.

El método que usaban los antiguos pobladores de la región, consistían en poner las hojas de la planta en un recipiente de agua tibia, y después de unas horas de reposo, sacaban las hojas, dejando el agua para batirla fuertemente hasta precipitar la tinta. Luego separaban el agua de la superficie por decantación, colaban el sedimento espeso en una tela de algodón o de fibras vegetales y el residuo pastoso lo moldeaba en forma de bolas que luego secaban a sol y calentaban después de endurecerlo.

La mayor producción de tinta se daba entre el segundo y tercer año de desarrollo de la planta, y a finales del siglo XVI, el procedimiento consistía en cortar las plantas y trasladarlas a los obrajes, así se llamaban las instalaciones donde se procesaba el añil, siempre inmediato a una fuente de agua ya que ésta se usaba en abundancia para el procesamiento.

CAPITULO IV

DISEÑO METODOLOGICO

4.0 DISEÑO METODOLOGICO

4.1 TIPO DE ESTUDIO

Prospectivo, debido a que esta investigación puede utilizarse como referencia en análisis posteriores. Experimental y analítico ya que se realizaron ensayos y pruebas analíticas a las especies vegetales en estudio.

4.2 INVESTIGACION BIBLIOGRAFICA

Para llevar acabo una investigación bibliográfica completa se visitaron las bibliotecas de los siguientes lugares:

- Biblioteca Dr. Benjamín Orozco de la Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador.
- Biblioteca de las Ingenierias de la Universidad de El Salvador, UES.
- Biblioteca Central de la Universidad de El Salvador, UES.
- Biblioteca de la Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer, USAM.
- Internet

4.3 INVESTIGACION DE CAMPO

4.3.1 UNIVERSO

Especies vegetales que contienen carotenoides e indol

4.3.2 TIPO DE MUESTREO

Para la toma de muestra se utilizó un muestreo de tipo puntual dirigido, debido a que se selecciono ***Bixa orellana Linn.*** (Achiote), e, ***Indigofera suffruticosa Mill*** (Añil), dichas especies fueron recolectadas en el local # 1054 del Mercado Central de San Salvador que comercializa dichas especies.

4.3.4 TAMAÑO DE LA MUESTRA

Para cada uno de los diferentes análisis y los procesos de extracción que se realizaron se utilizaron un aproximado de 300 g por cada una de las especies en estudio: ***Bixa orellana Linn*** (Achiote), e, ***Indigofera suffruticosa Mill*** (Añil). Y tomando en cuenta todos los procesos desarrollados se recolecto un aproximado de 1000 g de cada una de las especies.

4.4 PROCESO DE EXTRACCION ⁽¹⁾

Para el proceso de extracción de los diferentes extractos que se obtendrán de las especies en estudio, se utilizarán 100g y 300g de cada una de ellas respectivamente, para cada proceso de extracción los solventes son los siguientes:

Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR

Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR levemente acidificado con Acido tartárico 0.1M

Método de Soxhlet, con metanol 100% AR.

Maceración con Alcohol Etílico al 90% AR

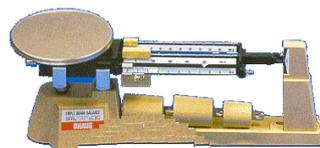
Maceración con Alcohol Etílico al 90% AR levemente acidificado con Acido tartárico al 0.1M.

A continuación se describen cada uno de ellos:

- Método de Soxhlet con Alcohol Etílico al 90% AR

-Limpiar y secar todas las piezas del aparato de Soxhlet.

-Pesar 100 g de muestra en balanza granataría de la especie vegetal en estudio.



-Colocar la muestra en el cartucho de extracción (dedal) de porosidad media e introducir en el percolador y adicionar en el matraz de destilación 250 mL de Alcohol Eílico al 90% AR.



-Armar el aparato de soxleth y portar calor utilizando para ello un Hot plate.



-Dejar durante una hora.

-Recibir el extracto en un vaso de precipitado con capacidad de 400 mL

-Envasar el extracto en un frasco plástico nevado.

-Rotular adecuadamente y almacenar en un lugar fresco, protegido de la luz y del calor excesivo.

- Método de Soxhlet con Alcohol Eílico al 90% AR levemente acidificado con Acido Tartárico al 0.1M.

-Limpiar y secar todas las piezas del aparato de Soxhlet.

-Pesar 100 g de muestra en balanza granataría de la especie vegetal en estudio.

- Colocar la muestra en el cartucho de extracción (dedal) de porosidad media e introducir en el percolador y adicionar en el matraz de destilación 250 mL de Alcohol Eílico al 90% AR levemente acidificado con Acido Tartárico 0.1M.
- Armar el aparato Soxhlet,y Aportar calor al aparato utilizando para ello un Hot plate.



- Dejar durante una hora.
- Recibir el extracto en un vaso de precipitado con capacidad de 400 mL
- Envasar el extracto en un frasco plástico nevado
- Rotular adecuadamente y almacenar en un lugar fresco, protegido de la luz y de l calor excesivo.

- Método de Soxhlet con Metanol al 100% AR

- Armar el aparato Soxhlet, con todas sus piezas previamente Limpias y secas.
- Pesar 100 g de muestra en balanza granataría de la especie vegetal en estudio.

-Colocar la muestra en el cartucho de extracción (dedal) de porosidad media e introducir en el percolador y adicionar en el matraz de destilación 250 mL de Metanol al 100% AR.

-Aportar calor al aparato utilizando para ello un Hot plate.



-Dejar durante una hora.

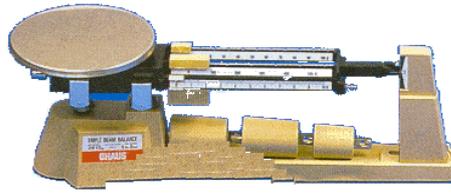
-Recibir el extracto en un vaso de precipitado con capacidad de 400 mL

- Envasar el extracto en un frasco plástico nevado

-Rotular adecuadamente y almacenar en un lugar fresco, protegido de la luz y del calor excesivo.

-Maceración con Alcohol Etílico al 90% AR.

-Pesar 300 g de muestra en balanza granataría de la especie vegetal en estudio.



-Colocar la muestra en un frasco plástico color blanco (nevado), de boca ancha con tapón de rosca y adicionar 250 mL de Alcohol Etílico al 90% AR



-Tapar el envase y agitar suavemente.



-Dejar macerar por un periodo de 24 horas a temperatura ambiente y protegido de la luz.

-Armar aparato de Filtración.



-Filtrar sobre papel Watman N°3 y recibir el filtrado en un vaso de precipitado de 400 mL



-Envasar, rotular y almacenar adecuadamente.

-Maceración con Alcohol Etílico al 90% AR levemente acidificado con Acido Tartárico 0.1M.

-Pesar 300g de muestra en balanza granataría de la especie vegetal en estudio.

-Colocar la muestra en un frasco plástico color blanco (nevado) , de boca ancha con tapón de rosca y adicionar 250 mL de Alcohol Etílico al 90% AR levemente acidificado con Acido Tartárico 0.1M.

-Tapar el envase y agitar suavemente.

-Dejar macerar por un periodo de 24 horas a temperatura ambiente y protegido de la luz.

-Filtrar sobre papel Watman N°3 y recibir el filtrado en un vaso de precipitado de 400 mL.



-Envasar, rotular y almacenar adecuadamente.



4.5 PRUEBAS FITOQUIMICAS PARA LA IDENTIFICACION DE CAROTENOIDES PRESENTES EN LA ESPECIE *Bixa orellana* Linn. (ACHIOTE) ⁽¹¹⁾

4.5.1 Ensayo general para Carotenoides:

Procedimiento:

1. En un tubo de ensayo colocar 5 mL de ácido Sulfúrico concentrado, y agregar por las paredes del tubo 2 mL del extracto etanólico del achiote, se observara en la zona de separación de las dos capas un color azul, y luego de unos minutos se formara una capa de color violeta característica de carotenoides.

4.5.2 Identificación de Bixina por Cromatografía de capa fina:

Procedimiento:

1. Activar la placa de sílice gel a 110°C. Preparar una solución al 5% a partir de etanol al 90%, y aplicar 10 en la placa. Después secar la placa y desarrollar la placa utilizando una mezcla de n-butanol, cetona, y una solución acuosa de amoníaco 10% (2:2:3 por volumen) dejar que la fase móvil ascienda por la placa cerca de 10 cm, aplicar las muestra y dejar secar. La bixina aparece como una mancha de color amarillo con Rf cerca de 0.45 .Rocíe la placa con

una solución de nitrito de sodio al 5%, y luego con una solución de ácido sulfúrico 1M, las manchas amarilla de las muestras se decoloran inmediatamente (se trabajara en cámara de extracción).

4.6 PRUEBAS FITOQUIMICAS PARA LA IDENTIFICACION DE ALCALOIDES PRESENTES EN LA ESPECIE, *Indigofera suffruticosa Mill (AÑIL)*. (12)

4.6.1 Dragendorff (prueba especifica para indol)

Procedimiento:

1. Solución a), 8 g $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ / 20 mL HNO_3 .
2. Solución b), 27.2 g KI / 50 mL de Agua destilada.
3. Mezclar a) y b)
4. En un tubo de ensayo se colocara 5 ml del extracto etanolico del añil y se le adiciono 3 mL del reactivo de Dragendorff, la formación de un precipitado color anaranjado indica la presencia del indol.

4.6.2 Reacción con Wagner:

Procedimiento:

1. Se coloco en un tubo de ensayo 5 ml del extracto etanolico del añil y se le añidio 2 mL del reactivo de Wagner (2,0g de KI + 1.27g I_2 / 5mL H_2O), la formación de un precipitado color marrón (+).

4.7 ESCALA DE pH. (1)

4.7.1 PRUEBA PRESUNTIVA.

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

Procedimiento:

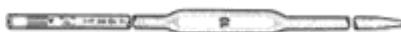
1. Transferir 5 mL de Ácido Clorhídrico 0.1M a un set de cinco vasos de precipitado de 10 mL, rotulados respectivamente según el extracto.



2. Transferir 5 mL de Hidróxido de sodio 0.1 M a un segundo set de cinco vasos de precipitados de 10 mL, rotulados respectivamente según el extracto.



3. Medir y transferir 1.0 ml de cada uno de los extractos mediante una pipeta volumétrica de 1.0 mL a cada uno de los vasos de precipitados que contiene la solución de Ácido Clorhídrico 0.1 M e Hidróxido de Sodio 0.1 M respectivamente.



4. Observar la intensidad y viraje de color en cada una de las soluciones.

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

CONSTRUCCIÓN DE ESCALA DE pH.

Procedimiento:

1. Preparar la solución Buffer a diferentes pH (1-13).
2. Medir y transferir 5.0 mL de cada solución Buffer por medio de una pipeta volumétrica de 5.0 mL a un set de catorce tubos de ensayo con tapón de rosca, respectivamente rotulados del 1 al 13.

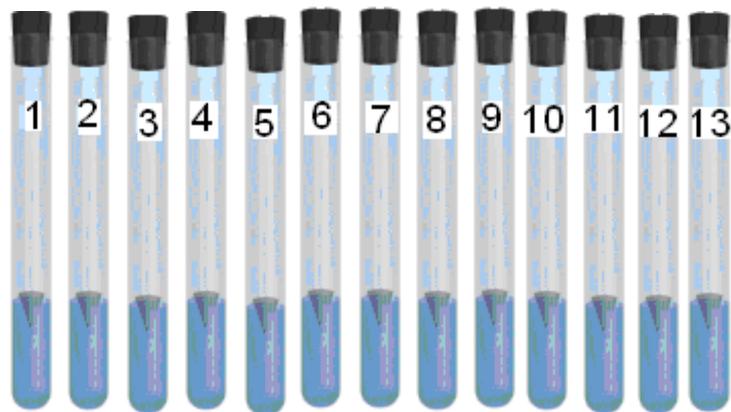


Figura N°8 Set de trece tubos de ensayo rotulados del 1 al 13 para la construcción de escala de pH.

3. Adicionar 1.0 mL del extracto o los extractos que presentarán las mejores características en la prueba presuntiva, con pipeta volumétrica de 1.0 mL a cada uno de los tubos de ensayo que contienen la solución Buffer a diferentes pH.
4. Tapar, agitar y dejar reposar por cinco segundos.

5. Colocar los set de catorce tubos de ensayo frente a una lámpara de luz blanca y se observara el viraje de color frente a diferentes valores de pH.

4.8 PAPEL INDICADOR. (1)

Para llevar acabo la elaboración del papel indicador a partir de la utilización de los mismos extractos. Se procederá de la siguiente forma:

1. Recortar tiras de papel Watman N° 3 de las siguientes características 0.5 cm de ancho y 5.0 cm de largo.
2. Transferir a un vaso de precipitado de 100 mL, 25 mL del extracto.
3. Colocar aproximadamente quince tiras de papel filtro dentro del vaso de precipitado, dejar impregnar por una hora.



Figura N°9 Proceso de impregnación del papel filtro con extracto.

4. Sacar las tiras de papel impregnadas del papel filtro y dejarlas secar sobre un vidrio de reloj a temperatura ambiente.

Para verificar el comportamiento del papel indicador elaborado frente a una solución acida y a una solución básica, se realizo una prueba de la siguiente manera:

1. Se colocan sobre un vidrio de reloj de 10cm. de Diámetro tres tiras de papel indicador enumeradas del 1 al 3.

2. Sobre el papel indicador N° 1 se adicionan unas gotas de ácido Clorhídrico 0.1M, y observar el viraje del color.
3. El papel indicador N°2 se utilizara como referencia (blanco) a este no se le añadirá ninguna solución.
4. Y sobre el papel indicador N°3 adicionar unas gotas de Hidróxido de Sodio 0.1M, observar el viraje de color y hacer la comparación.

Finalmente para comprobar el funcionamiento de los extractos a ser utilizados como indicadores acido-base, a partir de las especies en estudio, se realizaran una serie de titulaciones ácido base potenciométricas, las cuales se describen de la siguiente manera:

4.9 TITULACIONES ACIDO BASE EN MEDIO ACUOSO UTILIZANDO LOS EXTRACTOS OBTENIDOS COMO INDICADORES. ⁽¹⁾

4.9.1 Titulaciones Ácido Fuerte (HCL 0.1M) vrs Base Fuerte NaOH (0.1M)

Procedimiento General:

1. Llenar la bureta de 50.0 mL con Hidróxido de Sodio 0.1M
2. Transferir 20.0 ml de Ácido Clorhídrico 0.1M por medio de una pipeta volumétrica de 20.0 mL a un beaker de 100mL.
3. Adicionar 1.0 mL del extracto, por medio de una pipeta volumétrica de 1.0 mL y agitar magnéticamente.
4. Introducir el electrodo de vidrio y tomar lectura de pH inicial.

5. Titular en volúmenes fraccionados de 5.0 mL hasta completar un volumen total de 15.0 mL, y seguidamente agregar de 3 mL mas, luego adicionar fracciones de 0.2 ml hasta observar el viraje del color del indicador y leer el valor específico de pH en cada adición de titulante.

4.9.2 Titulación Ácido Débil (CH_3COOH 0.1M) vrs Base Fuerte (NaOH 0.1M)

Procedimiento General:

1. Llenar la bureta de 50.0 mL con Hidróxido de Sodio 0.1M
2. Transferir 20.0 ml de Ácido acético 0.1M por medio de una pipeta volumétrica de 20.0 mL a un beaker de 100mL.
3. Adicionar 1.0 mL del extracto, por medio de una pipeta volumétrica de 1.0 mL y agitar magnéticamente.
4. Introducir el electrodo de vidrio y tomar lectura de pH inicial.
5. Titular en volúmenes fraccionados de 5.0 mL hasta completar un volumen total de 15.0 mL, y seguidamente agregar de 3 mL mas, luego adicionar fracciones de 0.2 ml hasta observar el viraje del color del indicador y leer el valor específico de pH en cada adición de titulante.

4.10 TITULACIONES ACIDO BASE EN MEDIO NO ACUOSO UTILIZANDO LOS EXTRACTOS OBTENIDOS COMO INDICADORES:

4.10.1 Titulaciones hidróxido de sodio (0.1M) en metanol vrs Acido perclórico (0.1M) en ácido Acético.

1. Llenar la bureta de 50.0 mL con hidróxido de sodio (0.1M) en metanol.
2. Y transferir 20.0 ml de solución de Acido perclórico (0.1M) en ácido acético por medio de una pipeta volumétrica, a un beaker de 100 mL.
3. Adicionar 1.0 mL del extracto, por medio de una pipeta volumétrica y agitar magnéticamente.
4. Titular en volúmenes fraccionados de 5.0 mL hasta completar un volumen total de 15.0 mL, y seguidamente agregar de 3 mL mas, luego adicionar fracciones de 0.2 ml hasta observar el viraje del color del indicador y leer el valor específico de pH en cada adición de titulante.

-Para poder hacer una comparación entre un indicador sintético y uno de origen natural (extractos obtenidos de las especies en estudio), se realizó una serie de titulaciones ácido-base para medio acuoso utilizando fenolftaleína como indicador sintético, luego se observaron y se compararon los resultados obtenidos , evaluando tanto de viraje neto de coloración e intensidad que presentan los indicadores tanto sintético como natural en el punto final de la titulación ,el procedimiento utilizando indicador sintético fue el siguiente:

4.11 TITULACIONES ACIDO BASE EN MEDIO ACUOSO UTILIZANDO

INDICADOR SINTETICO (FENOLFTALEINA):

4.11.1 Titulaciones Ácido Fuerte (HCL 0.1M) vrs Base Fuerte NaOH (0.1M)

Procedimiento General:

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

2. Transferir 20.0 ml de Ácido Clorhídrico 0.1M por medio de una pipeta volumétrica de 20.0 mL a un beaker de 100 mL.
3. Adicionar 3 gotas de fenolftaleina y agitar magnéticamente.
4. Adicionar el valorante gota a gota y observar el viraje de coloración
5. Tomar la lectura del volumen de valorante gastado.

4.11.2 Titulación Ácido Débil (CH_3COOH 0.1M) vrs Base Fuerte (NaOH 0.1M)

Procedimiento General:

1. Llenar la bureta de 25.0 mL con Hidróxido de Sodio 0.1M
2. Transferir 20.0 ml de Ácido Acético 0.1M por medio de una pipeta volumétrica de 20.0 mL a un beaker de 100 mL.
3. Adicionar 3 gotas de fenolftaleina y agitar magnéticamente.
4. Observar el viraje de coloración y tomar la lectura del volumen de valorante gastado.

CAPITULO V

RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS.

5.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS.

a. PROCESO DE OBTENCION DE EXTRACTOS A SER UTILIZADOS COMO INDICADORES ÁCIDO –BASE A PARTIR DE *Bixa orellana* Linn. (ACHIOTE), E, *Indigofera suffruticosa* Mill (AÑIL). (1)

Para la obtención de los diferentes extractos a ser utilizados como indicadores ácido-base la muestra de *Bixa orellana* Linn. (ACHIOTE), E, *Indigofera suffruticosa* Mill (AÑIL), fueron sometidas a un proceso de extracción por método soxhlet utilizando como solventes de extracción: Alcohol Etílico al 90% AR, Alcohol Etílico al 90% AR levemente acidificado con ácido Taratárico 0.1M, y Metanol 100% AR. Y a un proceso de Maceración en el que se utilizaron los solventes de extracción siguientes: Alcohol Etílico al 90% AR, y Alcohol Etílico al 90% AR levemente acidificado con ácido Taratárico 0.1M. Obteniéndose de esa forma 10 extractos con diferentes intensidades del mismo color según especie:



Figura N°10 Extractos obtenidos a partir de *Bixa orellana* Linn. (ACHIOTE), E, *Indigofera suffruticosa* Mill (AÑIL), con los diferentes solventes en el proceso de maceración.



Figura N°11 Extractos obtenidos a partir de *Bixa orellana Linn. (ACHIOTE)*, E, *Indigofera suffruticosa Mill (AÑIL)*, con los diferentes solventes por el Método Soxhlet.

Cuadro N°4 Extractos obtenidos de *Bixa orellana Linn. (ACHIOTE)*, y sus intensidades de color obtenidos.

EXTRACTO	COLORACION DEL EXTRACTO
Método Soxhlet Alcohol Etílico al 90% AR.	 Anaranjado Intenso- oscuro
Método Soxhlet Alcohol Etílico al 90% AR levemente acidificado con ácido Tartrático 0.1M	 Anaranjado Claro
Método Soxhlet Metanol 100% AR	 Anaranjado claro
Maceración Alcohol Etílico al 90% AR	 Anaranjado-Rojizo
Maceración Alcohol Etílico al 90% AR levemente acidificado con ácido Tartrático 0.1M	 Anaranjado

Cuadro N°5 Extractos obtenidos de *Indigofera suffruticosa Mill* (AÑIL), y sus intensidades de color obtenidos.

EXTRACTO	COLORACION DEL EXTRACTO
Método Soxhlet Alcohol Etílico al 90% AR.	 Violeta Oscuro
Método Soxhlet Alcohol Etílico al 90% AR levemente acidificado con ácido Tartrárico 0.1M	 Violeta claro
Método Soxhlet Metanol 100% AR	 Violeta claro
Maceración Alcohol Etílico al 90% AR	 Café
Maceración Alcohol Etílico al 90% AR levemente acidificado con ácido Tartrárico 0.1M	 Café

b. PRUEBAS FITOQUIMICAS PARA LA IDENTIFICACION DE CAROTENOIDES PRESENTES EN LA ESPECIE *Bixa orellana Linn.* (ACHIOTE) ⁽¹¹⁾

Las pruebas fitoquímicas realizadas al extracto etanólico de esta especie se hizo con la finalidad de identificar sustancias características presentes en ella como son los carotenoides, para ello se utilizaron una serie de reactivos específicos para la determinación de este tipo de sustancias. A continuación se presentan los resultados

obtenidos de las pruebas realizadas a extracto etanolico de *Bixa orellana* Linn. (ACHIOTE).

- **Ensayo general para Carotenoides:**

Al añadir sobre el ácido Sulfúrico concentrado el extracto etanolico de achiote, se observo en la zona de separación de las dos capas un color azul, y después de unos minutos se formo una capa de color violeta característica de carotenoides, además que se pudo percibir al (tacto) que se estaba produciendo una reacción de tipo exotérmica.



Figura N°12 Prueba fitoquímica para la identificación general de carotenoides utilizando extracto etanólico de *Bixa orellana* Linn. (ACHIOTE).

-**Identificación de Bixina por Cromatografía de capa fina (Microplaca-Preparativa):**

Primero se activa la placa de sílice gel a 110°C. Se le aplica 10 ml a la placa de una solución al 5% Etanol, después secar la placa. Se preparo luego una fase móvil (n-butanol, cetona, y una solución acuosa de amoniacó 10% (2:2:3 por volumen).



Luego se dejó por media hora saturando la cámara de cromatografía.



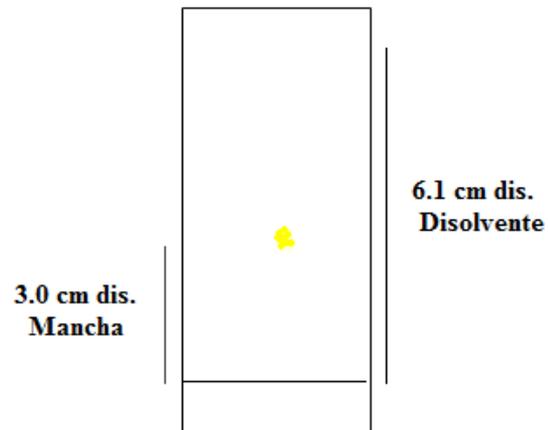
Después se aplicó la muestra del extracto etanólico de achiote en la placa cromatográfica de sílice utilizando para ello una jeringa, se dejó secar.



El siguiente paso fue introducir la placa cromatográfica a la cámara y dejar que corra la mancha con la fase móvil.



Teniendo como resultado final la aparición de una mancha de color amarillo a una distancia de 3.0 cm que se decoloró al rociarla con solución de ácido sulfúrico 1M.



Obteniéndose un Rf de:

$$R_f = \frac{\text{Dis. de la Mancha}}{\text{Dis. de Fase Móvil}}$$

$$R_f = \frac{3.0 \text{ cm.}}{6.1 \text{ cm}} = 0.49$$

Cuadro N°6 Resultados de las Pruebas Fitoquímicas realizadas a el extracto etanolico de *Bixa orellana Linn.* (ACHIOTE) para la identificación de la especie.

SUSTANCIA FITOQUÍMICA	PRUEBA DE IDENTIFICACIÓN	RESULTADO ESPERADO		RESULTADO OBSERVADO
		Teórico	Practico	
Carotenoides	Ensayo general para carotenoides.	Coloración Violeta	Coloración Violeta	+
Bixina (Carotenoide)	Cromatografía de capa fina para Bixina.	Rf= 0.50	Rf= 0.49	+

(+) Prueba positiva, resultado positivo.

Por medio de las diferentes pruebas realizadas a el extracto etanolico de ***Bixa orellana Linn.*** (ACHIOTE), se logro determinar la presencia de carotenoides tanto de una forma general como específica (Bixina) ya que todas la pruebas realizadas resultaron positivas, es de mucha importancia mencionar que estos principios activos son característicos en esta especie.

c. PRUEBAS FITOQUIMICAS PARA LA IDENTIFICACION DE ALCALOIDES PRESENTES EN LA ESPECIE, *Indigofera suffruticosa Mill* (AÑIL).⁽¹²⁾

- Dragendorff (prueba específica para indol):

Se coloco en un tubo de ensayo 5ml del extracto etanolico del añil y se le adicono 3mL del reactivo de Dragendorff , se pudo observar la formación de un precipitado color anaranjado que indica la presencia del indol.



Figura N°13 Prueba fitoquímica utilizando reactivo de Dragendorff con extracto etanolico de ***Indigofera suffruticosa Mill*** (AÑIL).

- Reacción con Wagner (Prueba general para alcaloides):

Al agregar el reactivo de wagner sobre el extracto etanolico de añil se observo la formación de un precipitado color marrón casi instantáneamente lo cual muestra la presencia de Alcaloides en el extracto.



Color marrón (+).

Figura N°14 Prueba fitoquímica utilizando reactivo de wagner con extracto etanólico de *Indigofera suffruticosa Mill (AÑIL)*, en la identificación de alcaloides.

Cuadro N°7 Resultados de las Pruebas Fitoquímicas realizadas a el extracto etanolico de *Indigofera suffruticosa Mill (AÑIL)* para la identificación de la especie.

SUSTANCIA FITOQUÍMICA	PRUEBA DE IDENTIFICACIÓN	RESULTADO ESPERADO		RESULTADO OBSERVADO
		Teórico	Practico	
Prueba específica para indol	Dragendorff	Precipitado anaranjado	Precipitado anaranjado	+
Alcaloides	Reacción con Wagner	Color marrón	Color marrón	+

(+) Prueba positiva, resultado positivo.

Por medio de las diferentes pruebas realizadas a el extracto etanolico de *Indigofera suffruticosa Mill (AÑIL)*, se logro determinar la presencia de Alcaloides tanto de una forma general como específica (Indol) ya que todas la pruebas realizadas resultaron positivas, es muy importante mencionar que estos principios activos son característicos en esta especie.

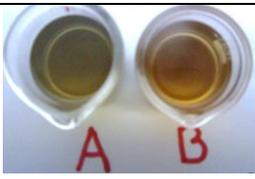
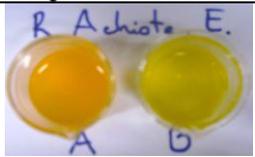
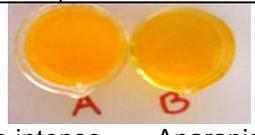
d. ESCALA DE pH. (1)

-PRUEBA PRESUNTIVA:

A los extractos obtenidos tanto de *Bixa orellana* Linn. (ACHIOTE), E, *Indigofera suffruticosa* Mill (AÑIL) se les realizo una prueba para observar la intensidad en el viraje de color de cada uno de ellos frente a una solución ácida y básica.

Las siguientes pruebas fueron para el medio acuoso con los diferentes extractos en el que se utilizo HCl 0.1M y NaOH 0.1M:

Cuadro N°8 Viraje e intensidad de coloración de los extractos obtenidos a partir de *Bixa orellana* Linn. (ACHIOTE), E, *Indigofera suffruticosa* Mill (AÑIL) con los diferentes solventes de extracción y los métodos de extracción en medio acuoso.

Método-Solvente de extracción -Especie	Resultados Obtenidos
Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR, Añil.	 <p>Verde musgo-----Ambar</p>
Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR, Achiote.	 <p>Anaranjado-----Amarillo Intenso</p>
Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR levemente acidificado con Acido tartárico 2%, Añil.	 <p>Verde oscuro opaco-----Ambar oscuro</p>
Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR levemente acidificado con Acido tartárico 2%, Achiote.	 <p>Anaranjado intenso-----Anaranjado intenso</p>

Método de Soxhlet, con metanol 100% AR. Añil.	 Verde opaco-----Ambar claro
Método de Soxhlet, con metanol 100% AR. Achiote.	 Anaranjado intenso-----Anaranjado intenso
Maceración con Alcohol Etílico al 90% AR. Añil.	 Verde turbio-----Ambar claro
Maceración con Alcohol Etílico al 90% AR. Achiote.	 Anaranjado opaco-----Anaranjado intenso
Maceración con Alcohol Etílico al 90% AR levemente acidificado con Acido tartárico 0.1M. Añil.	 Café claro opaco-----Café claro
Maceración con Alcohol Etílico al 90% AR levemente acidificado con Acido tartárico 0.1M. Achiote.	 Anaranjado opaco-----Amarillo anaranjado

Los extractos que fueron seleccionados por su viraje de coloración e intensidad frente al ácido y la base fueron: El extracto obtenido por Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR de *Indigofera suffruticosa Mill* (AÑIL) y el extracto obtenido por Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR, *Bixa orellana Linn.* (ACHIOTE). Estos fueron comparados con el resto de los extractos y se observó que estos presentan un cambio de coloración más definida y viraje de coloración más neto frente al ácido o la base, además que no presentaron turbidez como otros extractos en medio ácido o básico.

Las siguientes pruebas fueron para el medio no acuoso con los diferentes extractos en el que se utilizo Acido perclórico (0.1M) en ácido Acético y hidróxido de sodio (0.1M) en metanol:

Cuadro Nº 9 Viraje e intensidad de coloración de los extractos obtenidos a partir de *Bixa orellana* Linn. (ACHIOTE), E, *Indigofera suffruticosa* Mill (AÑIL) con los diferentes solventes de extracción y los métodos de extracción en medio no acuoso.

Método-Solvente de extracción -Especie	Resultados Obtenidos
Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR, Añil.	 <p>Café turbio-----Ambar claro</p>
Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR, Achiote.	 <p>Anaranjado intenso-----Amarillo anaranjado</p>
Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR levemente acidificado con Acido tartárico 2%, Añil.	 <p>Café claro-----Café claro turbio</p>
Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR levemente acidificado con Acido tartárico 2%, Achiote.	 <p>Anaranjado intenso-----Anaranjado opaco</p>
Método de Soxhlet, con metanol 100% AR. Añil.	 <p>Café turbio-----Ambar oscuro</p>

<p>Método de Soxhlet, con metanol 100% AR. Achiote.</p>	 <p>Anaranjado opaco-----Amarillo anaranjado</p>
<p>Maceración con Alcohol Etílico al 90% AR. Añil.</p>	 <p>Cafe oscuro-----Café oscuro opaco</p>
<p>Maceración con Alcohol Etílico al 90% AR. Achiote.</p>	 <p>Anaranjado rojizo-----Anaranjado oscuro opaco</p>
<p>Maceración con Alcohol Etílico al 90% AR levemente acidificado con Acido tartárico 0.1M. Añil.</p>	 <p>Cafe oscuro-----Café oscuro opaco</p>
<p>Maceración con Alcohol Etílico al 90% AR levemente acidificado con Acido tartárico 0.1M. Achiote.</p>	 <p>Anaranjado intenso-----Anaranjado opaco</p>

Los virajes en las coloraciones obtenidos en medio no acuoso a partir de los extractos de *Bixa orellana* Linn. (ACHIOTE), E, *Indigofera suffruticosa* Mill (AÑIL), utilizando Acido perclórico (0.1M) en ácido Acético y hidróxido de sodio (0.1M) en metanol, no tuvieron un cambio significativo en cada uno de los medios (ácido-base), además que se observó la formación de precipitados y turbidez en el medio básico. Por lo tanto ninguno de los extractos fue seleccionado como extracto a ser utilizado en valoraciones de medio no acuoso.

-CONSTRUCCIÓN DE ESCALA DE pH:

Luego de haber verificado con las pruebas preliminares el viraje de coloración de los diferentes extractos en distintos medios y partiendo del extracto obtenido por Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR, de *Indigofera suffruticosa Mill* (AÑIL) y el extracto obtenido por Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR de *Bixa orellana Linn.* (ACHIOTE) se elaboro una escala de pH obteniendo los siguientes resultados respectivamente:

- *Indigofera suffruticosa Mill* (AÑIL):



Figura N°15 Escala de pH obtenida a partir del extracto obtenido por Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR de *Indigofera suffruticosa Mill* (AÑIL).

Cuadro N°10 Variación de color de el extracto etanólico de *Indigofera suffruticosa Mill* (AÑIL) frente a las soluciones buffer a distintos valores de pH.

pH	Coloración
1	Verde musgo
2	Verde musgo
3	Verde musgo
4	Verde pálido
5	Verde Claro
6	Verde Claro
7	Verde-anaranjado claro

Continuación Cuadro N° 10

8	Verde-anaranjado claro
9	Anaranjado-canela
10	Anaranjado-canela
11	Canela-ámbar
12	Canela-ámbar
13	Ámbar

A distintos valores de pH se pudo observar los diferentes colores que presento el extracto etanolico de *Indigofera suffruticosa Mill* (AÑIL), dichas coloraciones van desde el verde musgo hasta una colación ámbar. En pH ácido el color predominante es el verde musgo, en pH básico es el Ámbar y en neutro Verde-anaranjado claro, esta tendencia se debe al comportamiento químico que presenta el anillo indolico que se encuentra en la especie frente a las soluciones a diferentes pH.

- *Bixa orellana Linn.* (ACHIOTE):



Figura N°16 Escala de pH obtenida a partir del extracto obtenido por Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR de *Bixa orellana Linn.* (ACHIOTE).

Cuadro N°11 Variación de color de el extracto etanolico de *Bixa orellana Linn.* (ACHIOTE) frente a las soluciones buffer a distintos valores de pH.

pH	Coloración
1	Anaranjado Intenso
2	Anaranjado Intenso
3	Anaranjado Intenso
4	Anaranjado Claro
5	Anaranjado Claro

Continuación Cuadro N° 11

6	Anaranjado-amarillo pálido
7	Anaranjado-amarillo pálido
8	Anaranjado-amarillo pálido
9	Amarillo pálido
10	Amarillo pálido
11	Amarillo Intenso
12	Amarillo Intenso
13	Amarillo Intenso

A distintos valores de pH se pudo observar los diferentes colores que presento el extracto etanolico de *Bixa orellana Linn.* (ACHIOTE), dichas coloraciones van desde el anaranjado intenso hasta el amarillo intenso. En pH ácido el color predominante es el Anaranjado intenso, en pH básico es el Amarillo intenso y en neutro Anaranjado-amarillo pálido, estas variaciones de color se deben a la interacción de la molécula de Bixina con las diferentes soluciones a diferentes pH.

-ELABORACIÓN DE PAPEL INDICADOR:

Para la elaboración del papel indicador se utilizaron el extracto obtenido por Método de Soxhlet, con Alcohol Etilico al 90% AR, de *Bixa orellana Linn.* (ACHIOTE), el cual presento una coloración anaranjada muy definida, y uniforme como se muestra a continuación:



Figura N°17 Papel indicador utilizando extracto obtenido por Método de Soxhlet, con Alcohol Etilico al 90% AR, de *Bixa orellana Linn.* (ACHIOTE) en proceso de secado.

Para comprobar la utilidad de este papel indicador, en los diferentes medios tanto ácido como básico, fue necesaria la adición de unas gotas de HCL 0.1M como medio ácido, y como medio básico se utilizó el NaOH 0.1M, con la finalidad de verificar el viraje de coloración que presenta dicho papel frente a estas soluciones. El resultado obtenido fue el siguiente:

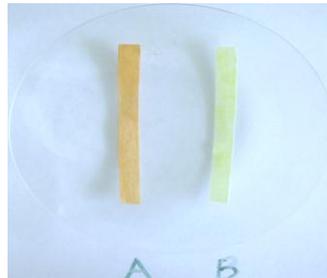


Figura N°18 Viraje de color de papel indicador utilizando extracto obtenido por Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR, de *Bixa orellana Linn.* (ACHIOTE).

Y también se utilizó el extracto obtenido por Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR de *Indigofera suffruticosa Mill* (AÑIL) el cual presentó una coloración morado pálido no definido, ni tampoco muy uniforme como se observa en la siguiente imagen:



Figura N°19 Papel indicador utilizando extracto obtenido por Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR, de *Indigofera suffruticosa Mill* (AÑIL) en proceso de secado.

Para comprobar la utilidad de este papel indicador, en los diferentes medios tanto ácido como básico, se verificó con la adición de unas gotas de HCL 0.1M como

solución ácida, y como solución básica se utilizó el NaOH 0.1M, con la finalidad de verificar el viraje de coloración que presenta dicho papel a diferentes pH. El resultado obtenido fue el siguiente:

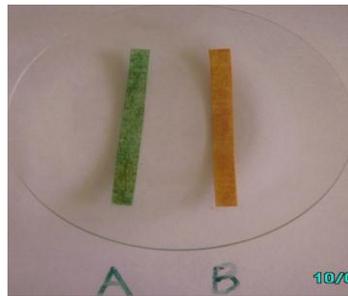


Figura N°20 Viraje de color de papel indicador utilizando extracto obtenido por Método de Soxhlet, con Alcohol Etilico al 90% AR, de *Indigofera suffruticosa Mill* (AÑIL).

Durante la elaboración del papel indicador se observó la facilidad de adsorción de los diferentes extractos por el papel Wathman N°3, y además se pudo comprobar en ambos casos el comportamiento indicador Acido-base que presenta cada uno de los extractos por el viraje de color en los diferentes medios.

-Luego para comprobar el funcionamiento de los extractos a ser utilizados como indicadores acido-base, a partir de las especies en estudio, se realizaron una serie de titulaciones ácido base potenciométricas:

TITULACIONES ACIDO BASE EN MEDIO ACUOSO UTILIZANDO LOS EXTRACTOS OBTENIDOS COMO INDICADORES. (1)

-Titulaciones Ácido Fuerte (HCL 0.1M) vrs Base Fuerte NaOH (0.1M) con extracto etanolico de *Bixa orellana Linn.* (ACHIOTE) como indicador:

Durante el proceso de Titulación se pudo observar que al inicio de la valoración la coloración era anaranjada intensa y la cual fue variando a amarillo por la adición de solución valorante, hasta que se llegó al punto final en donde se observó un viraje a amarillo intenso definido, y también un cambio brusco de pH:



Figura N°21 **A:** Inicio de la titulación 20.0 ml de Ácido Clorhídrico 0.1M y 1 mL del extracto etanólico de *Bixa orellana* Linn. (ACHIOTE) coloración anaranjada.

B: Proceso de titulación y toma de pH en la adición de los mL de titulante agregado.

C: Finalización de la titulación, verificación del punto final con el viraje de color a amarillo intenso, y cambio brusco del pH.

Cuadro N° 12 Valores de pH obtenidos mediante la adición del titulante en la valoración Ácido Fuerte (HCL 0.1M) vrs Base Fuerte NaOH (0.1M) con extracto etanólico de *Bixa orellana* Linn. (ACHIOTE) como indicador.

Volumen de valorante agregado (mL)	Lectura de pH
0	1.82
5	2.62
10	2.77
15	2.98

Continuación Cuadro N° 12

18	3.76
18.2	3.8
18.4	3.86
18.6	3.89
18.8	4.1
19	4.98
19.2	5.31
19.4	5.99
19.6	6.71
19.8	9.34
20	10.1

El viraje del indicador se observó claramente a un volumen de 19.6 mL con una lectura de pH=6.71, lo cual determina el punto final de la titulación. Con una serie de cálculos se logra graficar $\Delta^2 \text{pH} / \Delta^2 V$ vs Volumen titulante agregado (mL), observando un punto de inflexión en la curva que es el punto que determina el cambio en la concavidad de esta, que corresponde al punto de equivalencia en la gráfica, en este punto se traza una tangente obteniéndose un valor para el punto de equivalencia igual a 19.4 mL, en donde la cantidad de valorante que ha sido agregado es estequiométricamente equivalente a las moléculas del analito las cuales han reaccionado químicamente con este.

Es de mucha importancia mencionar que en este punto el valor de la segunda derivada cambia a signo negativo(-) este cambio es utilizado como una señal analítica para la verificación del punto de equivalencia, determinándose de esta forma la cercanía del punto final con el punto de equivalencia.

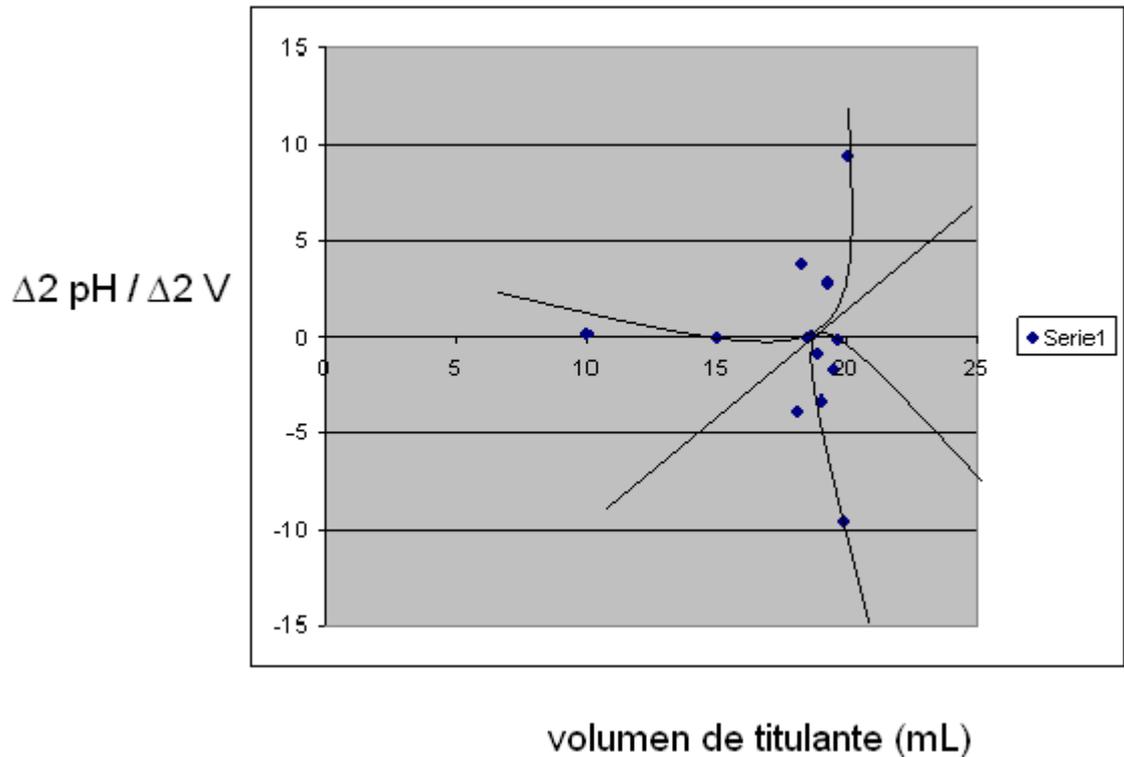


Figura N°22 Grafico de la titulación Ácido Fuerte (HCL 0.1M) vrs Base Fuerte NaOH (0.1M) con extracto etanolico de *Bixa orellana Linn.* (ACHIOTE) como indicador ácido-base. (ver cálculos en anexo 3).

-Titulación Ácido Débil (CH_3COOH 0.1M) vrs Base Fuerte (NaOH 0.1M) con extracto etanolico de *Bixa orellana Linn.* (ACHIOTE) como indicador:

Durante el proceso de Titulación se pudo observar que al inicio de la valoración la coloración era anaranjada intensa y la cual fue variando a amarillo por la adición de solución valorante, hasta que se llego al punto final en donde se observo un viraje a amarillo intenso definido, y también un cambio brusco de pH.

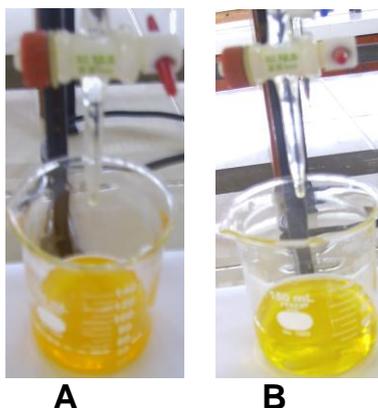


Figura N°23 **A:** Inicio de la titulación 20.0 ml de Ácido acético 0.1M y 1mL del extracto etanólico de *Bixa orellana Linn.* (ACHIOTE) coloración anaranjada.
B: Finalización de la titulación, verificación del punto final con el viraje de color a amarillo intenso, y cambio brusco del pH.

Cuadro N°13 Valores de pH obtenidos mediante la adición del titulante en la valoración Ácido Débil (CH_3COOH 0.1M) vrs Base Fuerte (NaOH 0.1M) con extracto etanólico de *Bixa orellana Linn.* (ACHIOTE) como indicador.

Volumen de valorante agregado (mL)	Lectura de pH
0	3.15
5	4.17
10	4.62
15	5.16
18	5.27
18.2	5.32
18.4	5.38
18.6	5.43
18.8	5.55
19	5.62
19.2	5.79
19.4	5.87
19.6	6.22
19.8	7.29
20	10.21

El viraje del indicador se observó claramente a un volumen de 19.8 mL con una lectura de pH=7.29, lo cual determina el punto final de la titulación. Con una serie de cálculos se logra graficar $\Delta^2 \text{pH} / \Delta^2 V$ vs Volumen titulante agregado (mL), observando un punto de inflexión en la curva que es el punto que determina el cambio en la concavidad de esta, que corresponde al punto de equivalencia en la gráfica, en este punto se traza una tangente obteniéndose un valor para el punto de equivalencia igual a 19.5 mL, en donde la cantidad de valorante que ha sido agregado es estequiométricamente equivalente a las moléculas del analito las cuales han reaccionado químicamente con este. Determinándose de esta forma la cercanía del punto final con el punto de equivalencia.

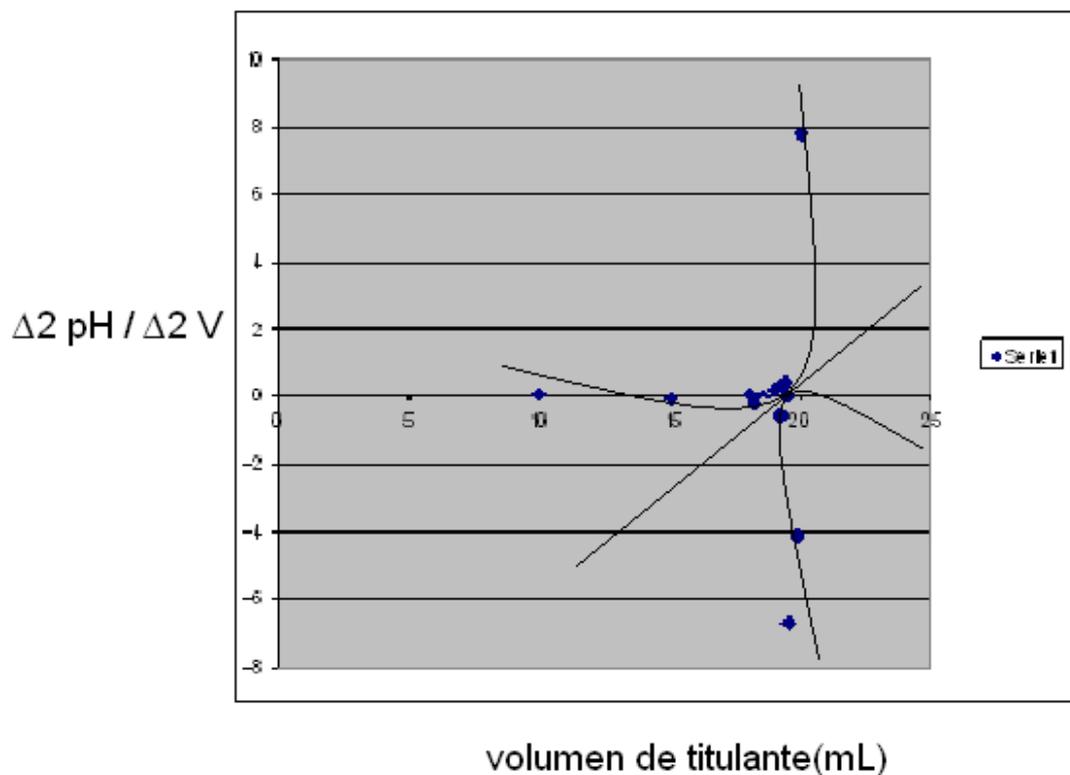


Figura N°24 Gráfico de la titulación Ácido Débil (CH_3COOH 0.1M) vs Base Fuerte (NaOH 0.1M) con extracto etanolico de *Bixa orellana* Linn. (ACHIOTE) como indicador ácido-base. (ver cálculos en anexo 4).

-Titulaciones Ácido Fuerte (HCL 0.1M) vrs Base Fuerte NaOH (0.1M) con extracto etanólico de *Indigofera suffruticosa Mill* (AÑIL) como indicador:

Durante el proceso de Titulación se pudo observar que al inicio de la valoración la coloración era verde musgo y la cual fue variando a verde claro-Ámbar por la adición de solución valorante, hasta que se llegó al punto final en donde se observó un viraje de color a Ámbar definido, y también un cambio brusco de pH:

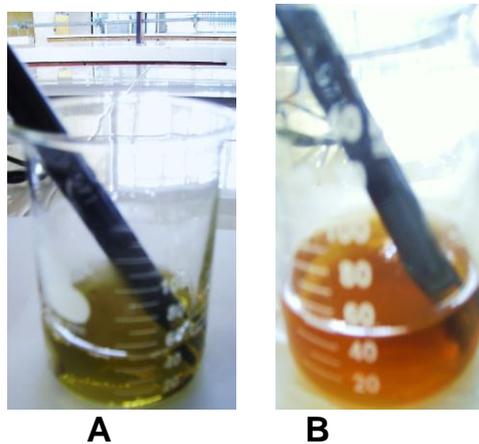


Figura N°25 A: Inicio de la titulación 20.0 ml de Ácido Clorhídrico 0.1M y 1mL del extracto etanolico de *Indigofera suffruticosa Mill* (AÑIL) coloración verde musgo.

B: Finalización de la titulación, verificación del punto final con el viraje de color a Ámbar, y cambio brusco del pH.

Cuadro N°14 Valores de pH obtenidos mediante la adición del titulante en la valoración Ácido Fuerte (HCL 0.1M) vrs Base Fuerte NaOH (0.1M) con extracto etanolico de *Indigofera suffruticosa Mill* (AÑIL) como indicador.

Volumen de valorante agregado (mL)	Lectura de pH
0	1.96
5	2.14
10	2.4

Continuación Cuadro N°14

15	2.57
18	3.59
18.2	3.71
18.4	3.94
18.6	4.28
18.8	4.76
19	5.1
19.2	5.86
19.4	6.39
19.6	9.11
19.8	9.61
20	9.97

El viraje del indicador se observó claramente a un volumen de 19.4 mL con una lectura de pH=6.39, lo cual determina el punto final de la titulación. Con una serie de cálculos se logra graficar $\Delta^2 \text{pH} / \Delta^2 V$ vs Volumen titulante agregado (mL), observando un punto de inflexión en la curva que es el punto que determina el cambio en la concavidad de esta, que corresponde al punto de equivalencia en la gráfica, en este punto se traza una tangente obteniéndose un valor para el punto de equivalencia igual a 19.2 mL, en donde la cantidad de valorante que ha sido agregado es estequiométricamente equivalente a las moléculas del analito las cuales han reaccionado químicamente con este, es de mucha importancia mencionar que en este punto el valor de la segunda derivada cambia a signo negativo(-) este cambio es utilizado como una señal analítica para la verificación del punto de equivalencia, determinándose de esta forma la cercanía del punto final con el punto de equivalencia.

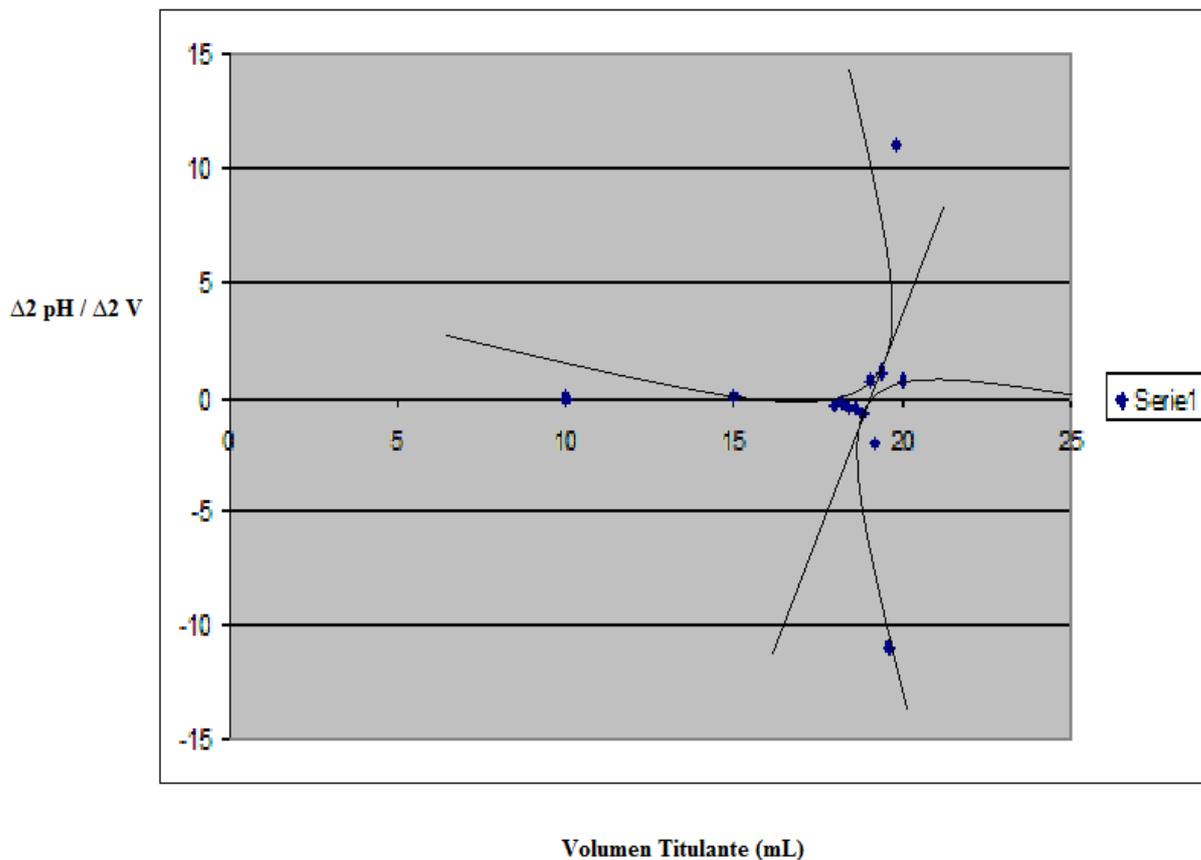


Figura N°26 Grafico de la titulación Ácido Fuerte (HCL 0.1M) vrs Base Fuerte NaOH (0.1M) con extracto etanólico de *Indigofera suffruticosa Mill* (AÑIL) como indicador ácido-base.

-Titulación Ácido Débil (CH₃COOH 0.1M) vrs Base Fuerte (NaOH 0.1M) con extracto etanólico de de *Indigofera suffruticosa Mill* (AÑIL) como indicador:

Durante el proceso de Titulación se pudo observar que al inicio de la valoración la coloración era verde musgo claro y la cual fue variando a verde claro-café por la adición de solución valorante, hasta que se llegó al punto final en donde se observó un viraje de color a café -Ámbar no muy definido, y también un cambio brusco de pH:

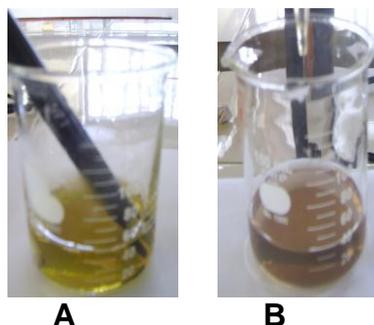


Figura N°27 A: Inicio de la titulación 20.0 ml de Ácido Acético 0.1M y 1mL del extracto etanolico de *Indigofera suffruticosa Mill* (AÑIL) coloración verde musgo claro.

B: Finalización de la titulación, verificación del punto final con el viraje de color café -Ámbar no muy definido, y cambio brusco del pH.

Cuadro N°15 Valores de pH obtenidos mediante la adición del titulante en la valoración Ácido Débil (CH_3COOH 0.1M) vrs Base Fuerte (NaOH 0.1M) con extracto etanolico de *Indigofera suffruticosa Mill* (AÑIL) como indicador.

Volumen de valorante agregado (mL)	Lectura de pH
0	3.18
5	4.13
10	4.64
15	5.18
18	5.22
18.2	5.31
18.4	5.39
18.6	5.45
18.8	5.53
19	5.6
19.2	5.72
19.4	5.81
19.6	6.89
19.8	9.12
20	9.87

El viraje del indicador se observó claramente a un volumen de 19.6 mL con una lectura de pH=6.89, lo cual determina el punto final de la titulación. Con una serie de

cálculos se logra graficar $\Delta^2 \text{pH} / \Delta^2 V$ vs Volumen titulante agregado (mL), observando un punto de inflexión en la curva que es el punto que determina el cambio en la concavidad de esta, que corresponde al punto de equivalencia en la grafica , en este punto se traza una tangente obteniéndose un valor para el punto de equivalencia igual a 19.5mL, en donde la cantidad de valorante que ha sido agregado es estequiométricamente equivalente a las moléculas del analito las cuales han reaccionado químicamente con este, es de mucha importancia mencionar que en este punto el valor de la segunda derivada cambia a signo negativo(-) este cambio es utilizado como una señal analítica para la verificación del punto de equivalencia, determinándose de esta forma la cercanía del punto final con el punto de equivalencia.

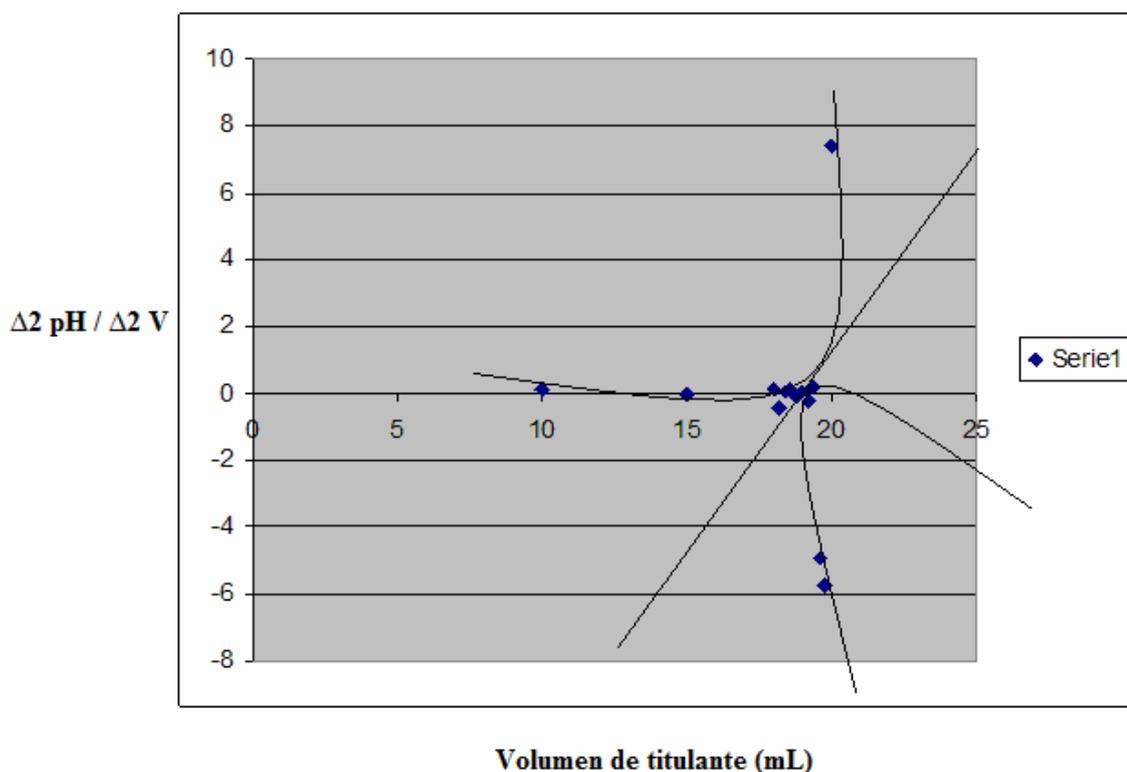
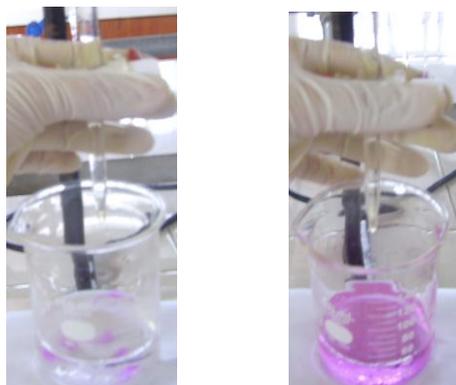


Figura N°28 Grafico de la titulación Ácido Débil (CH_3COOH 0.1M) vs Base Fuerte NaOH (0.1M) con extracto etanólico de *Indigofera suffruticosa Mill* (AÑIL) como indicador ácido-base.

TITULACIONES ACIDO BASE EN MEDIO ACUOSO UTILIZANDO INDICADOR SINTETICO.

-Titulacion Ácido Fuerte (HCL 0.1M) vrs Base Fuerte NaOH (0.1M)

Al inicio de la valoración el indicador se presenta de una forma incolora ya que en medio ácido la fenolftaleina no posee coloración, y a medida que se añadió el titulante se observaba la formación de un color rosado que desaparecía, al llegar al final de la titulación se pudo observar la coloración rosada, que indico que se había llegado al punto final.



A

B

Figura N°29 **A:** Inicio de la titulación 20.0 ml de Ácido Clorhídrico y tres gotas de fenolftaleina, se puede observar la aparición de una coloración rosada que desaparece con agitación.
B: Finalización de la titulación, verificación del punto final con el viraje de color ha rosado definido y estable.

-Titulación Ácido Débil (CH₃COOH 0.1M) vrs Base Fuerte (NaOH 0.1M)

En esta titulación utilizando siempre fenolftaleina, se obtuvieron los mismos resultados que en la titulación anterior ya que al inicio de la valoración el indicador se presenta de una forma incolora ya que en medio ácido la fenolftaleina no posee coloración, y a medida que se añadió el titulante se observaba la formación de un

color rosado que desaparecía, al llegar al final de la titulación se pudo observar la coloración rosada, que indico que se había llegado al punto final.



A

Figura N°30 A: Finalización de la titulación, verificación del punto final con el viraje de color ha rosado definido y estable.

CAPITULO VI
CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

1. Mediante las diferentes pruebas fitoquímicas generales y específicas para la identificación de los principios activos presentes en las especies en estudio, se utilizó el extracto obtenido por Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR de *Indigofera suffruticosa Mill* (AÑIL) y el extracto obtenido por Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR, *Bixa orellana Linn.* (ACHIOTE) pudiendo verificar de esta manera la presencia de Alcaloides de tipo indólicos y carotenoides (Bixina) respectivamente, al obtener resultados positivos, concluimos que las especies utilizadas no presentaban ningún tipo de falsificación.
2. Las muestras fueron sometidas a dos procesos de extracción obteniendo 4 extractos que presentaron las mejores coloraciones, tanto por su intensidad y definición en su coloración estos fueron los extractos obtenidos tanto por Método de Soxhlet y Maceración, con Alcohol Etílico al 90% AR de *Indigofera suffruticosa Mill* (AÑIL) obteniéndose las coloraciones siguientes Violeta oscuro y café respectivamente, y el extracto obtenido por Método de Soxhlet y Maceración, con Alcohol Etílico al 90% AR, *Bixa orellana Linn.* (ACHIOTE) obteniéndose las coloraciones siguientes Anaranjado Intenso-oscuro y Anaranjado-rojizo respectivamente.
3. Se realizó una prueba presuntiva con la finalidad de observar el viraje de coloración de cada uno de los extractos frente a una solución ácida y a una

básica, utilizando en medio acuoso (HCl 0.1M y NaOH 0.1M) en donde los extractos que presentaron un viraje de coloración definido y neto fueron Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR de ***Indigofera suffruticosa Mill*** (AÑIL) y el extracto obtenido por Método de Soxhlet, con Alcohol Etílico al 90% AR, ***Bixa orellana Linn.*** (ACHIOTE), con los cuales se trabajo en la construcción de una escala de pH (1-13) y en la elaboración de papel pH.

4. En medio no acuoso se utilizó para la prueba presuntiva (Acido perclórico (0.1M) en ácido Acético y hidróxido de sodio (0.1M) en metanol) no obteniendo resultados útiles ya que la mayoría de los extractos presentaban inestabilidad formando precipitados o turbidez frente a los pH tan altos que presentan las soluciones utilizadas en medios no acuosos.
5. En la construcción de la escala de pH (1-13) se pudo observar la gama de colores que presentan cada uno de los extractos seleccionados en la prueba presuntiva, frente a las soluciones bufferes a diferentes pH 1 al 13 por lo tanto se pudo comprobar la utilidad de estos extractos para ser utilizados como indicadores de origen natural.
6. Los virajes de coloración que presento el papel pH elaborado con el extracto de ***Bixa orellana Linn*** (ACHIOTE) al estar en contacto con la solución ácida fue de color Anaranjado palido y en la básica un color amarillo, y los virajes de coloración que presento el papel pH elaborado con el extracto de ***Indigofera suffruticosa Mill*** (AÑIL) al estar en contacto con la solución ácida fue de

color Verde musgo y en la básica un color Ámbar , por los resultados obtenidos estos papeles pH pueden ser útiles en la determinación de la acidez y alcalinidad de una sustancia X.

7. Al trazar las curvas de titulación ácido-base $\Delta^2 \text{pH} / \Delta^2 V$ vs Volumen (mL) basándose en las lecturas de pH obtenidas durante las titulaciones Ácido Fuerte (HCL 0.1M) vs Base Fuerte NaOH (0.1M) y Ácido Débil (CH_3COOH 0.1M) vs Base Fuerte (NaOH 0.1M), se pudo verificar la cercanía del punto final (viraje del indicador) con el punto de equivalencia (lecturas con pHmetro) de las diferentes titulaciones utilizando tanto el extracto etanólico de ***Bixa orellana Linn.*** (ACHIOTE) como el extracto etanólico de ***Indigofera suffruticosa Mill*** (AÑIL), por lo tanto estos pueden utilizarse como indicadores ácido-base para medio acuoso.
8. Este tipo de indicadores de origen natural se puede comparar con el sintético más empleados (fenolftaleína), ya que tanto el natural y el sintético presentaron virajes de coloración bien definidos y netos en la verificación del punto final de la titulación.

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES

7.0 RECOMENDACIONES

1. Hacer un estudio más profundo de los diferentes métodos de identificación de principios activos de las especies en estudio, para que de esa forma se pueda verificar con mucha más exactitud la existencia o no, de falsificación o adulteración de las especies que se estudian, para garantizar de esa manera la obtención de extractos de mayor pureza.
2. Realizar un estudio de estabilidad para los extractos obtenidos de ***Bixa orellana Linn.*** (ACHIOTE), y de ***Indigofera suffruticosa Mill*** (AÑIL) , y así poder establecer condiciones adecuadas para su conservación tanto físico-química , como microbiológica.
3. Utilizar tanto el extracto etanólico de ***Bixa orellana Linn.*** (ACHIOTE) , como el extracto etanólico de ***Indigofera suffruticosa Mill*** (AÑIL) como indicadores ácido-base en las practicas de laboratorio en donde se realicen titulaciones ácido fuerte -base fuerte , ácido débil-base fuerte para que de esa manera se contribuya de una forma positiva al mejoramiento del medio ambiente evitando de esa forma el uso de indicadores sintéticos que lo dañan seriamente.
4. Promover el estudio de otras especies vegetales que pueden ser útiles en la obtención de indicadores ácido –base, para que de esa manera se aprovechen los recursos naturales existentes en el territorio nacional y a la

vez contribuir al ambiente, para que se evite de esta forma la contaminación acelerada por el uso excesivo de sustancias químicas que pueden producir tóxicos nocivos para el medio ambiente.

VIII. BIBLIOGRAFIA

8.0 BIBLIOGRAFIA

1. Barahona C. y otros, 2006, Obtención de Indicadores Ácido –Base a partir de Cáscara de Phaseolus vulgaris (Frijol). Para optar al grado de licenciatura de Química y Farmacia, San Salvador El Salvador, Universidad de El Salvador/ Pág.71-77, 82-85.
2. Chang R. y otros, 2003, Química, Séptima Edición, México, Mc. Graw Hill Interamericana Editores, S.A de C.V. Cap 15 y 16.
3. Day R. y otros. Underwood,1989, Química Analítica Cuantitativa, 5^{ta} Edición, México, Editorial Prentice-Hal Hispanoamericana S.A. Pag 200-207.
4. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, México 2000, 7^a Edición, Tomo I, Pág. 621- 623.
5. Fisher R. y otros, 1968, Análisis Químico Cuantitativo, Tercera Edición, México, Editorial Interamericana, S.A, Pags 220-275, 293-315.
6. Gilbert A., 1989, Análisis Químico Cuantitativo, Segunda Edición, México, Editorial HARLA, Pag Capitulo 36.

7. González M. y otros, 2007. Obtención del colorante de la semilla de achiote (Bixa orellana) utilizando microorganismos celulolíticos. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
8. Devia J. y otros. , 2003, Planta piloto para la obtención de colorantes de la semilla de achiote (Bixa orellana) , Medellín Colombia Universidad EAFIT.
9. Meléndez A. y otros, 2006. Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas Laboratorio de Color y Calidad de Alimentos. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. 41012 Sevilla, España.
10. Skoog D. y otros, 2000, Química Analítica, Séptima Edición, México, Mc. Graw Hill .Interamericana Editores, S.A. de C.V. Cap. 11 y 12.
11. Trease G, 1987, Tratado de Farmacognosia, Décima segunda Edición, México, Interamericana S.A de C.V. Pág.536.
12. Ugaz O., 1994, Investigación Fotoquímica (Métodos en el estudio de productos naturales), Segunda Edición, Perú, FONDO Editorial. Pág. 129,135.
13. Vega L. y otros, 2005, Obtención de Indicadores Ácido –Base a partir de cuatro especies de Flores. Para optar al grado de licenciatura de Química y Farmacia, San Salvador El Salvador, Universidad de El Salvador/ Pág. Anexo 21.

14. http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6WMVGX1J7C2&_user=10&_rdoc=1&_fmt=&_orig=search&_sort=d&view=c&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=8977b19fe2b1d8b60517a45e25d16d54
15. www.fitoterapia.net
16. <http://www.interhiper.com/medicina/fitoterapia/achiote.htm>
17. <http://www.clubregatas.org.pe/revista/200402/achiote.htm>
18. <http://ccbolgroup.com/achiote.html>
19. <http://www.ptnsa.com/achiote.html>
20. http://images.google.com/sv/imgres?imgurl=http://www.kalsec.com/es/images/annatto/molecul_e_norbixin.gif&imgrefurl=http://www.kalsec.com/es/products/annatto_source.cfm&h=83&w=175&sz=2&hl=es&start=2&um=1&tbnid=U1m6a3HetvUvGM:&tbnh=47&tbnw=100&prev=/images%3Fq%3Dnorbixina%26svnum%3D10%26um%3D1%26hl%3Des%26lr%3D%26sa%3Dn
21. <http://www.guanacosonline.org/origenes/OrigenesHistoria.htm>
22. http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/meiq/perez_l_oa/capitulo4.pdf
23. <http://es.wikipedia.org/wiki/Carotenoide>

24. <http://esencialis.blogspot.com/2007/11/achiote.html>

25. http://www.vermail.net/jibanezo/Bixa_orellana.htm#AnActiveDiversifiedAgricultureSector

26. http://www.grokfood.com/jecfa/additive_0606.htm

27. <http://translate.google.com/translate?hl=es&sl=en&u=http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874106002571&sa=X&oi=translate&resnum=5&ct=result&prev=/search%3Fq%3Dbixin%2Bphytochemical%2Banalysis%26hl%3Des%26lr%3D%26sa%3DG>

28. <http://www.elsalvador-online.com/anil/html/otro.html>

29. http://www.ciese.org/curriculum/dipproj2/es/lesson_scale.shtml

30. http://www.nutrivea-es.com/la_escal_a_del_ph.htm

X. ANEXOS

ANEXO N°1
MATERIALES

MATERIALES

Agitadores de vidrio

Aro metálico

Balones volumétricos de 100.0 , 250.0 , 500.0 , 1000.0 ml

Buretas de 25mL , 50mL.

Embudo

Espátulas

Frascos plásticos boca ancha

Gradilla para tubos de ensayo

Malla de Asbesto

Mangueras

Matraces de fondo plano

Microespatula

Papel filtro Whatman #3

Papel Glasin

Perillas

Pinzas para bureta

Pinzas de extensión

Pinzas de soporte

Pipetas volumétricas 1.0 mL, 5.0 mL, 20.0 mL.

Probetas de 10,25 y 100 ml

Refrigerante

Soporte Metálico

Tubo de ensayo con rosca

Vaso de precipitado de 10,100, 150,250 y 400 ml

Vaso de precipitado de plástico de 250 ml

Vidrio de reloj

EQUIPO

Agitador Magnético

Balanza Analítica

Balanza Granataría y semianalítica

Cámara de Extracción de gases

Cámara cromatográfica

Equipo de reflujo Soxhlet

Hot- plate

Lámpara de luz Blanca

Mechero Bunsen

pH- metro

Placa cromatografica.

REACTIVOS

Acido acético glacial AR

Acido bórico AR

Acido clorhídrico 37% AR

Acido clorhídrico 0.1M Titrisol (Merck)

Acido fosfórico 85% AR

Acido perclórico (0.1M) en ácido Acético

Ácido Tartárico (sólido) AR

Água destilada

Etanol 90% AR

Fenolftaleína AR

Hidróxido de sódio (sólido) AR

Hidróxido de sodio (0.1M) en metanol AR

Metanol 100% AR

Reactivo de Dragendorff

Reactivo de Wagner.

.

ANEXO N°2
PREPARACION DE REACTIVOS

SOLUCIÓN BUFFER ⁽¹³⁾

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

1. En una Balanza Analítica, se pesaron 2.4 g de Ácido Bórico y se disolvió en aproximadamente 25 mL de agua libre de CO₂ contenidos en un beaker de 50mL, agitar hasta disolución.
2. En un balón volumétrico de 1000.0 mL que contenga cerca de 500 mL de agua destilada libre de CO₂, mezclar: 2.7 mL de Ácido Fosfórico (d= 1.70; %p/p = 85.5%), 2.3 mL de Ácido Acético Glacial (d = 1.05; % P = 99.9%) y la solución de Ácido Bórico recientemente preparada, agitar hasta completa homogenización.
3. Llevar a volumen con agua destilada libre de CO₂
4. Homogenizar, envasar y rotular.

PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES BUFFER A DIFERENTES pH ⁽¹³⁾

1. Rotular trece envases plásticos con el valor de **pH (1-13)**



2. Adicionar a cada frasco cantidades exactas de solución ácida , de HCL 0.04M e Hidróxido de Sodio 0.2M según la siguiente tabla:

Tabla N°1 Preparación de las soluciones buffres a diferentes pH 1 al 13.

mL de Solución Ácida 0.04M	mL de Hidróxido de Sodio 0.2M	pH
100	-----	1
95	5	2
80	20	3
75	22	4
70	30	5
65	35	6
55	45	7
35	65	8
30	70	9
25	75	10
20	80	11
-----	100	12
-----	-----	13

(*) El pH de 1 se obtiene por la lectura directa en el pHmetro del Acido Clorhídrico 0.1M.

(**) El pH de 13 se obtiene por la lectura directa en el pHmetro del Hidróxido de sodio 0.1M.

SOLUCIÓN DE ACIDO TARTÁRICO 0.1M ⁽¹³⁾

Cálculos:

PM _{Ácido Tartárico} = 150g/mol

$$M = \frac{g}{PM * V(L)}$$

$$g = M * PM * V(L)$$

$$g = (0.1M) * (150 \text{ g/mol}) * (1L)$$

$$g = 15.0 \text{ g}$$

Pesar 15.0 g Ácido Tartárico _____ y Aforar a 1000.0 mL de agua desmineralizada.

Solución de Ácido Tartárico pH =1

Etanol al 90% pH=7

0.6mL Ácido Tartárico 0.1M _____ 10.0mL de etanol para obtener un pH de 3-4

X _____ 1000.0 mL de etanol al 90%

X= 60mL de Solución de Ácido Tartárico para 1000 mL de solución de etanol levemente acidificado (pH=3-4).

PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE ACIDO TARTÁRICO 0.1M

Preparación:

1. Pesar en balanza semianalítica 15.0 g de Ácido Tartárico y disolverlo en aproximadamente 25.0 ml de agua desmineralizada, contenidos en un vaso de precipitado de 50 ml, agitar hasta completa disolución haciendo uso de un agitador de vidrio.

2. Transferir la solución a un balón volumétrico de 100.0 ml y llevar a volumen con agua desmineralizada.
3. Homogenizar, envasar y rotular.

PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE ETANOL LEVEMENTE ACIDIFICADO CON ACIDO TARATARICO 0.1M ⁽¹³⁾

Preparación:

1. Por medio de una pipeta volumétrica de 20.0mL, transferir 60.0mL de Solución de Ácido Tartárico 0.1M a 1000mL de etanol al 90% medido en un balón volumétrico.
2. Envasar, y rotular adecuadamente.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS ESTANDARIZADOS

ÁCIDO ACETICO 0.1M ⁽⁴⁾

PM _{Ácido Acético} = 60.0 g/mol

% de Pureza _{Ácido Acético} = 99.9% p/v

ρ _{Ácido Acético} = 1.05 g/mL

99.9 g _{Ácido Acético} _____ 100.0 mL de solución

60.0 g _{Ácido Acético} _____ X

X= 60.1 g _{Ácido Acético}.

$$\rho = m/v \quad v=m/ \rho$$

Donde: ρ = densidad

m = masa

v= volumen

$$v= 60.1 \text{ g \u00c1cido Ac\u00e9tico} / (1.05 \text{ g/mol})$$

v= 57.24mL de \u00c1cido Ac\u00e9tico Glacial para 1000.0mL de soluci\u00f3n 1M

$$57.24 \text{ mL \u00c1cido Ac\u00e9tico Glacial} \quad \underline{\hspace{2cm}} \quad 1M$$

$$X \quad \underline{\hspace{2cm}} \quad 0.1M$$

$$X= 5.72 \text{ mL de \u00c1cido Ac\u00e9tico Glacial}$$

X... 5.70 mL de \u00c1cido Ac\u00e9tico Glacial para 1000.0mL de soluci\u00f3n 0.1M

PREPARACI\u00d3N:

1. Preparar esta soluci\u00f3n en c\u00e1mara de extracci\u00f3n.
2. Adicionar 500mL de agua destilada a un bal\u00f3n volum\u00e9trico de 1000.0mL y adicionar con una pipeta de Morh 5.7 mL de de \u00c1cido Ac\u00e9tico Glacial, y agitar la soluci\u00f3n.
3. llevar a volumen con agua destilada.
4. Homogenizar, envasar en frasco de vidrio y rotular.

PROCESO DE ESTANDARIZACI\u00d3N DEL \u00c1CIDO AC\u00c9TICO 0.1M (4)

1. Llenar una bureta de 25.0 mL con la solución de Ácido Acético 0.1M, previamente ambientada con ésta.
2. Transferir por medio de una pipeta volumétrica 10.0mL de Hidróxido de Sodio 0.1M VS previamente estandarizado a un erlenmeyer de 100 mL.
3. Adicionar dos gotas Fenolftaleína 1% y agitar.
4. Titular el Hidróxido de sodio, adicionando el Ácido Acético poco a poco con agitación constante hasta llegar al punto final, el cual se verifica cuando la solución se torna de rosa a incolora.
5. Tomar la lectura de volumen gastado de Ácido Acético 0.1M.

Cálculos:

$$V_{mx} = 10.0 \text{ mL} \quad \text{NaOH } 0.1 \text{ M}$$

Se realizaron dos valoraciones:

Valoración N° 1

Volumen Gastado de Ácido Acético = 10.0 mL

Valoración N° 2

Volumen Gastado de Ácido Acético = 10.0 mL

$$M_{\text{Ácido Acético}} = \frac{V_{\text{mL Hidróxido de Sodio}} \times M_{\text{Hidróxido de Sodio}}}{V_{\text{mL Ácido Acético}}}$$

$$M_1 = \frac{10.0 \text{ mL} \times 0.1 \text{ M}}{10.0 \text{ mL}}$$

$$M_2 = \frac{10.0 \text{ mL} \times 0.1 \text{ M}}{10.0 \text{ mL}}$$

$$M_1 = 0.1 \text{ M}$$

$$M_2 = 0.1 \text{ M}$$

Promedio de la concentración de Ácido Acético de dos valoraciones:

$$M = (0.1 + 0.1)M / 2$$

M Real = 0.1M Ácido Acético.

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

$$Fc = \frac{0.1}{0.1}$$

$$0.1$$

$$Fc = 1.0$$

PREPARACIÓN:

ACIDO CLORHIDRICO 0.1M (13)

PM Ácido Clorhídrico = 36.46 g/mol

% Pureza Ácido Clorhídrico = 37% p/p

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

37.0g Ácido Clorhídrico _____ 100g Ácido Clorhídrico en solución

36.5 g Ácido Clorhídrico _____ X

X= 98.6 g Ácido Clorhídrico

$$\rho = m/v \quad v=m/ \rho$$

Donde: ρ = densidad

m = masa

v= volumen

$$v= 98.6 \text{ g Ácido Clorhídrico} / (1.19\text{g/mL})$$

v= 82.9 mL de Ácido Clorhídrico Concentrado para 1000.0 mL de solución 1M.

82.9mL Ácido Clorhídrico _____ 1M

$$X \quad \underline{\hspace{2cm}} \quad 0.1M$$

$$X = 8.29 \text{ mL}$$

X...8.3 mL de Ácido Clorhídrico Concentrado para 1000.0mL de solución 0.1M

TECNICA DE PREPARACIÓN ⁽¹³⁾

1. Preparar esta solución en cámara de extracción.
2. Prepara un baño de agua fría.
3. Colocar en un balón volumétrico de 1000.0mL que contenga aproximadamente 500mL de agua destilada en baño de agua fría, adicionar con una pipeta de Morh 8.3 mL de Ácido Clorhídrico Concentrado y agitar suavemente.
4. Llevar a volumen con agua destilada.
5. Homogenizar, envasar en frasco de vidrio y rotular.

PROCEDIMIENTO DE ESTANDARIZACIÓN DEL ÁCIDO CLORHIDRICO 0.1M ⁽⁶⁾

1. Llenar una bureta de 25.0 mL con la solución de Ácido Clorhídrico 0.1M, previamente ambientada con este.
2. Transferir por medio de una pipeta volumétrica 10.0mL de Hidróxido de Sodio 0.1M previamente estandarizado a un erlenmeyer de 100 mL.
3. Adicionar dos gotas Fenolftaleína 1% y agitar.
4. Titular el Hidróxido de sodio, adicionando el Ácido Clorhídrico poco a poco con agitación constante hasta llegar al punto final, el cual se verifica cuando la solución se torna de rosado intenso a incolora.

5. Tomar la lectura de volumen gastado de Ácido Clorhídrico 0.1M.

Cálculos:

$$V_{mx} = 10.0 \text{ ml} \quad \text{NaOH } 0.1 \text{ M}$$

Valoración N° 1

$$\text{Volumen Gastado de Ácido Clorhídrico } 0.1 \text{ M} = 10.1 \text{ mL}$$

Valoración N° 2

$$\text{Volumen Gastado de Ácido Clorhídrico } 0.1 \text{ M} = 10.0 \text{ mL}$$

$$M \text{ Ácido Clorhídrico} = \frac{V_{\text{mL Hidróxido de Sodio}} \times M \text{ Hidróxido de Sodio}}{V_{\text{mL Ácido Clorhídrico}}}$$

$$M_1 = \frac{10.1 \text{ mL} \times 0.1 \text{ M}}{10.0 \text{ mL}}$$

$$M_2 = \frac{10.0 \text{ mL} \times 0.1 \text{ M}}{10.0 \text{ mL}}$$

$$M_1 = 0.101 \text{ M}$$

$$M_2 = 0.10 \text{ M}$$

Promedio de la concentración de Ácido Clorhídrico de dos valoraciones:

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

$$M \text{ Real} = 0.1005 \text{ M Ácido Clorhídrico}$$

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

$$Fc = \frac{0.1005}{0.1}$$

$$Fc = 1.005.$$

PREPARACIÓN:

HIDROXIDO DE SODIO 0.1M ⁽¹³⁾

PM Hidróxido de Sodio = 40.0 g/mol

40.0 g Hidróxido de Sodio _____ 1M (para 1000.0 mL de solución 1M)

X _____ 0.1M

X= 4.0 g de Hidróxido de Sodio para 1000.0 mL de solución 0.1 M.

PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACIÓN:

1. Pesar rápidamente en un vaso de precipitado de 50.0 mL, 4.0 g de Hidróxido de Sodio utilizando una balanza semianalítica, y disolverlo con una pequeña cantidad de agua libre de CO₂, y agitar hasta completa disolución.
2. Transferir la solución a un balón volumétrico de 1000.0 mL y llevar a volumen con agua libre de CO₂.
3. Homogenizar, envasar y rotular.
4. Baño de hielo.

PROCEDIMIENTO PARA LA ESTANDARIZACIÓN DEL HIDROXIDO DE SODIO

0.1M ⁽⁶⁾

1. Llenar una bureta de 25.0 mL con solución de HCL 0.1M titrisol, previamente ambientada con este.
2. Por medio de una pipeta volumétrica de 10.0 mL transferir NaOH 0.1M a un erlenmeyer de 125.0 mL.

3. Adicionar dos gotas de fenolftaleína 1% y agitar hasta homogenizar.
4. Titular el NaOH, adicionando el HCL poco a poco con agitación constante hasta llegar al punto final, el cual se verifica cuando la solución se torna de incolora a, rosado intenso.
5. Tomar la lectura del volumen gastado de HCL 0.1M

Cálculos:

Cálculos:

V mx = 10.0 mL de Ácido Clorhídrico 0.1 M titrisol

Se realizaron dos valoraciones:

Valoración N° 1

Volumen Gastado de Hidróxido de Sodio 0.1 M = 10.1 mL

Valoración N° 2

Volumen Gastado de Hidróxido de Sodio 0.1 M = 10.0 mL

$$M \text{ Hidróxido de Sodio} = \frac{V_{\text{mL Ácido Clorhídrico}} \times M \text{ Ácido Clorhídrico } 0.1\text{M titrisol}}{V_{\text{mL Hidróxido de Sodio}}}$$

$$M_1 = \frac{10.1 \text{ mL} \times 0.1 \text{ M}}{10.0 \text{ mL}}$$

$$M_2 = \frac{10.0 \text{ mL} \times 0.1 \text{ M}}{10.0 \text{ mL}}$$

$$M_1 = 0.101 \text{ M}$$

$$M_2 = 0.10 \text{ M}$$

Promedio de la concentración de Hidróxido de Sodio de dos valoraciones:

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

M Real = 0.1005 M Hidróxido de Sodio 0.1 M

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

$$\text{Fc} = \frac{1.1005}{0.10}$$

$$\text{Fc} = 1.005$$

ANEXO N°3

CALCULOS

Cálculos para la obtención del punto de equivalencia graficando $\Delta^2 \text{pH} / \Delta^2 V$ vs Volumen (mL), a partir de los datos obtenidos en la Titulación Ácido Fuerte (HCL 0.1M) vs Base Fuerte NaOH (0.1M) utilizando el extracto etanolico de *Bixa orellana* Linn. (ACHIOTE).

$$\Delta V = \text{mL}_2 - \text{mL}_1$$

$$\Delta \text{pH} = \text{pH}_2 - \text{pH}_1$$

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

$$\text{Segunda derivada} = \Delta^2 \text{pH} / \Delta^2 V$$

Tabla N°2 Resultados obtenidos y datos procesados.

V (mL)	pH	ΔV	ΔpH	$\Delta \text{pH} / \Delta V$	$\Delta^2 \text{pH} / \Delta^2 V$
0	1.82	-----	-----	-----	-----
5	2.62	5	0.80	0.16	-----
10	2.77	5	0.15	0.03	0.13
15	2.98	5	0.21	0.042	-0.012
18	3.76	3	0.78	3.9	-3.858
18.2	3.8	0.2	0.04	0.2	3.7
18.4	3.85	0.2	0.05	0.25	-0.05
18.6	3.89	0.2	0.04	0.2	0.05
18.8	4.1	0.2	0.21	1.05	-0.85
19	4.98	0.2	0.88	4.4	-3.35
19.2	5.31	0.2	0.33	1.65	2.75
19.4	5.99	0.2	0.68	3.4	-1.75
19.6	6.71	0.2	0.72	3.6	-0.2
19.8	9.34	0.2	2.63	13.15	-9.55
20	10.1	0.2	0.76	3.8	9.35

ANEXO N°4

CALCULOS

Cálculos para la obtención del punto de equivalencia graficando $\Delta^2 \text{pH} / \Delta^2 \text{V}$ vs Volumen (mL), a partir de los datos obtenidos en la Titulación Ácido Débil (CH_3COOH 0.1M) vs Base Fuerte NaOH (0.1M) utilizando el extracto etanólico de *Bixa orellana* Linn. (ACHIOTE).

$$\Delta V = \text{mL}_2 - \text{mL}_1$$

$$\Delta \text{pH} = \text{pH}_2 - \text{pH}_1$$

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

$$\text{Segunda derivada} = \Delta^2 \text{pH} / \Delta^2 V$$

Tabla N°3 Resultados obtenidos y datos procesados.

V (mL)	pH	ΔV	ΔpH	$\Delta \text{pH} / \Delta V$	$\Delta^2 \text{pH} / \Delta^2 V$
0	3.15	-----	-----	-----	-----
5	4.17	5	1.02	0.2	-----
10	4.62	5	0.45	0.09	0.11
15	5.16	5	0.54	0.11	-0.02
18	5.27	3	0.11	0.04	0.07
18.2	5.32	0.2	0.05	0.25	-0.21
18.4	5.38	0.2	0.06	0.3	-0.05
18.6	5.43	0.2	0.05	0.25	0.05
18.8	5.55	0.2	0.12	0.6	-0.35
19	5.62	0.2	0.07	0.35	0.25
19.2	5.79	0.2	0.17	0.85	-0.5
19.4	5.87	0.2	0.08	0.4	0.45
19.6	7.29	0.2	1.42	7.1	-6.7
19.8	9.53	0.2	2.24	11.2	-4.1
20	10.21	0.2	0.68	3.4	7.8

ANEXO N°5

CALCULOS

Cálculos para la obtención del punto de equivalencia graficando

$\Delta^2 \text{pH} / \Delta^2 \text{V}$ vs Volumen (mL), a partir de los datos obtenidos en la

Titulación Ácido Fuerte (HCL 0.1M) vs Base Fuerte NaOH (0.1M) utilizando

el extracto etanólico de *Indigofera suffruticosa Mill* (AÑIL).

$$\Delta V = \text{mL}_2 - \text{mL}_1$$

$$\Delta \text{pH} = \text{pH}_2 - \text{pH}_1$$

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

$$\text{Segunda derivada} = \Delta^2 \text{pH} / \Delta^2 V$$

Tabla N°4 Resultados obtenidos y datos procesados.

V (mL)	pH	ΔV	ΔpH	$\Delta \text{pH} / \Delta V$	$\Delta^2 \text{pH} / \Delta^2 V$
0	1.96	-----	-----	-----	-----
5	2.14	5	0.18	0.036	-----
10	2.4	5	0.26	0.052	-0.016
15	2.57	5	0.17	0.034	0.018
18	3.59	3	1.02	0.34	-0.306
18.2	3.71	0.2	0.12	0.6	-0.26
18.4	3.94	0.2	0.23	1.15	-0.55
18.6	4.28	0.2	0.34	1.7	-0.55
18.8	4.76	0.2	0.48	2.4	-0.7
19	5.1	0.2	0.34	1.7	0.7
19.2	5.86	0.2	0.76	3.8	-2.1
19.4	6.39	0.2	0.53	2.65	1.15
19.6	9.11	0.2	2.72	13.6	-10.95
19.8	9.61	0.2	0.5	2.5	11.1
20	9.97	0.2	0.36	1.8	0.7

ANEXO N°6

CALCULOS

Cálculos para la obtención del punto de equivalencia graficando $\Delta^2 \text{pH} / \Delta^2 \text{V}$ vs Volumen (mL), a partir de los datos obtenidos en la Titulación Ácido Débil (CH_3COOH 0.1M) vs Base Fuerte NaOH (0.1M) utilizando el extracto etanólico de *Indigofera suffruticosa Mill* (AÑIL).

$$\Delta V = \text{mL}_2 - \text{mL}_1$$

$$\Delta \text{pH} = \text{pH}_2 - \text{pH}_1$$

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

$$\text{Segunda derivada} = \Delta^2 \text{pH} / \Delta^2 V$$

Tabla N°5 Resultados obtenidos y datos procesados.

V (mL)	pH	ΔV	ΔpH	$\Delta \text{pH} / \Delta V$	$\Delta^2 \text{pH} / \Delta^2 V$
0	3.18	-----	-----	-----	-----
5	4.13	5	0.95	0.19	-----
10	4.64	5	0.51	0.1	0.09
15	5.18	5	0.54	0.11	-0.01
18	5.22	3	0.04	0.01	0.1
18.2	5.31	0.2	0.09	0.45	-0.44
18.4	5.39	0.2	0.08	0.4	0.05
18.6	5.45	0.2	0.06	0.3	0.1
18.8	5.53	0.2	0.08	0.4	-0.1
19	5.6	0.2	0.07	0.35	0.05
19.2	5.72	0.2	0.12	0.6	-0.25
19.4	5.81	0.2	0.09	0.45	0.15
19.6	6.89	0.2	1.08	5.4	-4.95
19.8	9.12	0.2	2.23	11.15	-5.75
20	9.87	0.2	0.75	3.75	7.4