

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



PROPUESTA DE UNA SOLUCION EXTRAIDA DE LOS PETALOS DE LAS
FLORES DE *Delonix regia* (ARBOL DE FUEGO) PARA SER APLICADO
COMO INDICADOR EN VALORACION ACIDO-BASE EN MEDIO ACUOSO

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR:
ALICIA EDELMIRA TORRES DURAN

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADA EN QUIMICA Y FARMACIA

MAYO, 2015

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTROAMERICA.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

ING. MARIO ROBERTO NIETO LOVO

SECRETARIA GENERAL

DRA. ANA LETICIA ZAVALA DE AMAYA

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANA

LIC. ANABEL DE LOURDES AYALA DE SORIANO

SECRETARIO

LIC. FRANCISCO REMBERTO MIXCO LOPEZ

DIRECCION DE PROCESO DE GRADUACION

DIRECTORA GENERAL

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo

**COORDINADORA DE AREA DE CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS
FARMACEUTICOS Y COSMETICOS.**

Lic. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez

**COORDINADORA DE AREA DE INDUSTRIA FARMACEUTICA, COSMETICA
Y VETERINARIOS:**

Lic. Mercedes Rossana Brito

DOCENTES ASESORES:

MSc. Eduardo Cortez García

Lic. Guillermo Antonio Castillo

AGRADEDIMIENTOS

Principalmente a Dios por haber provisto todo lo necesario para el desarrollo de mi carrera y finalmente realizar este trabajo de graduación.

A mi hijo, mis padres, hermano, mi esposo; familiares y amigos por brindarme su apoyo incondicional a lo largo de mi carrera académica.

Agradezco a Lic. Odette Rauda Acevedo, Lic. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez, Lic. Mercedes Rossana Brito, Lic. Guillermo Antonio Castillo Ruíz y MSc. Eduardo Cortez García, por haber realizado las observaciones necesarias, y así presentar un excelente trabajo de graduación; a la institución del Herbario de la Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas de la Universidad de El Salvador (ITIC) en donde se me colaboró con información científica brindada por la MSc. Nohemy Elizabeth Ventura Centeno; así mismo agradezco al personal de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, por brindarme la oportunidad de crecer académicamente; tomando todo en consideración gracias por todo el apoyo recibido.

Finalmente agradezco el apoyo incondicional de mi jefa inmediata, a mis compañeras de trabajo y a la empresa farmacéutica en general, por abrirme las puertas de sus instalaciones para iniciar mi carrera profesional y por brindarme su colaboración para poder terminar satisfactoriamente este ciclo de mi vida.

Alicia Torres

DEDICATORIA

Por la culminación de una meta más en mi vida, doy gracias primeramente a Dios Todopoderoso, por darme la sabiduría, paciencia y carácter necesario a cada instante, para lograr con éxito esta meta propuesta. A mi hijo Eduardo Alfredo Ramírez Torres, por su amor, paciencia, por compartir su tiempo con mis estudios y sobre todo porque cada madrugada luchamos juntos por este sueño. A mis padres Mauricio Alfredo Torres y Sandra Noemí de Torres; por su amor, comprensión, sus consejos, porque siempre han estado conmigo apoyándome en toda mi vida, y por sus oraciones para que todo me saliera bien. A mi hermano Carlos Eduardo Torres por todo su apoyo, cariño, comprensión en todo el tiempo de mi carrera. A José Ramírez por todo su amor, paciencia, comprensión y por todos sus ánimos a seguir siempre adelante y no desfallecer. A Lic. Francisca de Avilés que además de ser mi jefa es mi amiga; y que con sus consejos aprendí la amistad, paciencia, responsabilidad, perseverancia, conocimientos y muchos más valores que ahora llevo conmigo para ponerlos en práctica en mi vida profesional. A Lic. Guillermo Castillo y MSc. Eduardo Cortez, gracias por la confianza que depositaron en mí, por guiarme en este proceso, por sus consejos y por brindarme todo el tiempo necesario para su asesoría. Al comité de procesos de graduación 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. A mis amigos y compañeras de trabajo que estuvieron siempre apoyándome en este proceso

A todos ellos dedico con amor y cariño este triunfo y doy gracias por estar siempre allí cuando más los necesité.

Alicia Torres

INDICE

	Pág.
Resumen	
Capítulo I	xv
1.0 Introducción	
Capítulo II	
2.0 Objetivos	
Capítulo II	
3.0 Marco teórico	20
3.1 Taxonomía	20
3.1.1 Descripción botánica	21
3.1.2 Generalidades	22
3.2 Métodos Analíticos Cuantitativos	23
3.2.1 Métodos volumétricos	24
3.2.2 Aspectos generales de los métodos volumétricos	24
3.2.3 Requisitos para los análisis volumétricos	25
3.3 Valoraciones ácido-base	26
3.3.1 Curvas de valoración	27
3.3.2 Tipos de curvas de valoración	28
3.4 Indicadores ácido-base y naturaleza del color	30
3.4.1 Indicadores ácido-base sintéticos	32
3.4.2 Indicadores ácido-base naturales	34
3.5 Antocianinas	35
3.6 Contaminación y residuos	38
Capítulo IV	
4.0 Diseño metodológico	43
4.1 Tipo de estudio	43
4.2 Investigación bibliográfica	43
4.3 Investigación de campo	44

4.4 Parte experimental	45
4.4.1 Proceso de extracción para la obtención del extracto	46
4.4.2 Pruebas preliminares	46
4.4.3 Pruebas químicas generales características para la presencia de flavonoides	47
4.4.4 Prueba química general característica para la presencia de antocianinas	48
4.4.5 Pruebas con soluciones buffer pH 1-14	48
4.4.6 Valoraciones ácido-base	49
Capítulo V	
5.0 Resultados y Discusión de Resultados	53
5.1 Identificación Botánica	53
5.2 Proceso de extracción para la obtención del extracto de las flores de Delonix regia	53
5.3 Pruebas presuntivas de viraje de color	53
5.4 Pruebas fitoquímicas para identificar flavonoides y antocianinas	54
5.5 Elaboración de una escala de pH a partir del extracto obtenido	55
5.6 Titulaciones ácido-base en medio acuoso	57
5.6.1 Titulación ácido fuerte-base fuerte	57
5.6.2 Titulación ácido débil-base fuerte	63
Capítulo VI	
6.0 Conclusiones	70
Capítulo VII	
7.0 Recomendaciones	73
Bibliografía	
Anexos	

INDICE DE ANEXOS

ANEXOS N°

1. Constancia de identificación botánica de la planta en estudio
2. Material, equipo y reactivos
3. Preparación de reactivos
4. Preparación de soluciones amortiguadoras según USP 35
5. Pruebas preliminares, pruebas fitoquímicas y valoraciones ácido – base realizadas al extracto obtenido
6. Cálculos

INDICE DE CUADROS

	Pág.
CUADROS N°	
1. Composición química del <i>Delonix regia</i>	22
2. Resultados de la variación del color de <i>Delonix regia</i> (árbol de fuego), frente a ácido clorhídrico 0.1N e hidróxido de sodio 0.1N	53
3. Resultados de Pruebas Fitoquímicas del Extracto etanólico de los pétalos de <i>Delonix regia</i> (árbol de fuego)	55
4. Variación de color del extracto etanólico de pétalos de flores de <i>Delonix regia</i> (árbol de fuego) con soluciones buffer pH 1 - 14.	56
5. Valores de pH en la titulación (HCl 0.1N VS - NaOH 0.1N VS) utilizando el extracto etanólico de los pétalos de las flores de <i>Delonix regia</i> (Árbol de fuego) como indicador para elaborar la curva de titulación ácido fuerte– base fuerte.	57
6. Datos para construir el gráfico de las curvas de titulación de la primera y de la segunda derivada con extracto etanólico de los pétalos de las flores de <i>Delonix regia</i> (Árbol de fuego)	60
7. Valores de pH en la titulación (CH ₃ COOH 0.1N VS - NaOH 0.1N VS) utilizando el extracto etanólico de los pétalos de las flores de <i>Delonix regia</i> (Árbol de fuego) como indicador para elaborar la curva de titulación ácido fuerte– base fuerte.	63
8. Datos para construir el gráfico de las curvas de titulación y de la segunda derivada con extracto etanólico de los pétalos de las flores de <i>Delonix regia</i> (Árbol de fuego)	65
9. Preparación de Soluciones Amortiguadoras según USP 35	93

INDICE DE FIGURAS

FIGURAS N°	Pág.
1. Fotografía ilustrada de <i>Delonix regia</i>	20
2. Indicadores sintéticos más comunes	34
3. Estructura fundamental del catión flavilio	36
4. Cambios estructurales de las antocianinas con el pH	37
5. Esquema del proceso metodológico de la parte experimental.	45
6. Gráfico de pH vrs Volumen (mL) de HCl 0.1N utilizando el extracto etanólico de los pétalos de las flores de <i>Delonix regia</i> (Árbol de fuego) como indicador.	58
7. Gráfico en una escala más ampliada de pH vrs Volumen (mL) de HCl 0.1N utilizando el extracto etanólico de los pétalos de las flores de <i>Delonix regia</i> (Árbol de fuego) como indicador.	59
8. Gráfico de la primera derivada ($\Delta\text{pH}/\Delta\text{V}$) vrs Volumen (mL) de HCl 0.1N utilizando el extracto etanólico de los pétalos de las flores de <i>Delonix regia</i> (Árbol de fuego) como indicador.	61
9. Gráfico de la segunda derivada ($\Delta^2\text{pH}/\Delta^2\text{V}$) vrs Volumen (mL) de HCl 0.1N utilizando el extracto etanólico de los pétalos de las flores de <i>Delonix regia</i> (Árbol de fuego) como indicador.	61
10. Gráfico en una escala más ampliada de la segunda derivada ($\Delta^2\text{pH}/\Delta^2\text{V}$) vrs Volumen (mL) de HCl 0.1N utilizando el extracto etanólico de los pétalos de las flores de <i>Delonix regia</i> (Árbol de fuego) como indicador.	62
11. Gráfico de pH vrs Volumen (mL) de CH_3COOH 0.1N utilizando el extracto etanólico de los pétalos de las flores de <i>Delonix regia</i> (Árbol de fuego) como indicador	64
12. Gráfico en una escala más ampliada de pH vrs Volumen (mL) de CH_3COOH 0.1N utilizando el extracto etanólico de los pétalos de las flores de <i>Delonix regia</i> (Árbol de fuego) como indicador.	64

FIGURAS N°	Pág.
13. Gráfico de la primera derivada ($\Delta\text{pH}/\Delta\text{V}$) vrs Volumen (mL) de CH_3COOH 0.1N utilizando el extracto etanólico de los pétalos de las flores de <i>Delonix regia</i> (Árbol de fuego) como indicador	67
14. Gráfico de la segunda derivada ($\Delta^2\text{pH}/\Delta^2\text{V}$) vrs Volumen (mL) de CH_3COOH 0.1N utilizando el extracto etanólico de los pétalos de las flores de <i>Delonix regia</i> (Árbol de fuego) como indicador.	67
15. Gráfico en una escala más ampliada de la segunda derivada ($\Delta^2\text{pH}/\Delta^2\text{V}$) vrs Volumen (mL) de CH_3COOH 0.1N utilizando el extracto etanólico de los pétalos de las flores de <i>Delonix regia</i> (Árbol de fuego) como indicador.	68
16. Extracto etanólico obtenido de la maceración de las flores de <i>Delonix regia</i>	95
17. Extracto de pétalos de flores de <i>Delonix regia</i> (árbol de fuego) frente a Ácido Clorhídrico 0.1N e Hidróxido de Sodio 0.1N respectivamente	95
18. Resultados obtenido de la prueba para flavonoides	96
19. Resultados obtenido luego de exponer el pétalo a vapores de amoníaco	96
20. Escala de pH obtenido a partir del extracto etanólico de pétalos de flores de <i>Delonix regia</i> (árbol de fuego).	96
21. Valoración ácido fuerte - base fuerte con extracto etanólico de los pétalos de las flores de <i>Delonix regia</i> antes del punto final (A) y después del punto final (B)	97
22. Valoración ácido débil - base fuerte con extracto etanólico de los pétalos de las flores de <i>Delonix regia</i> antes del punto final (A) y después del punto final (B)	97

RESUMEN

La presente investigación tiene como finalidad proponer una solución extraída de los pétalos de las flores de *Delonix regia* (árbol de fuego) para ser empleada como indicador ácido-base en medio acuoso.

Por lo que se procedió inicialmente a identificar la muestra vegetal en estudio en las instalaciones del Herbario de la Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas de la Universidad de El Salvador (ITIC); luego se desarrolló la parte experimental en las instalaciones de los laboratorios de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador; para la obtención de la solución fue necesario la utilización de un proceso de extracción el cual fue el método de maceración por un periodo de ocho días a temperatura ambiente utilizando como solvente extractor etanol 90°.

Al extracto obtenido se le realizaron diferentes pruebas con el fin de conocer si es ideal para utilizarlo como indicador ácido – base de origen natural; entre ellas están pruebas sencillas con HCl 0.1N y NaOH 0.1N para comprobar si existía un cambio químico frente a una solución ácida o básica, dicho cambio se evidenció por el viraje de color en la solución, luego se realizaron pruebas fitoquímicas generales para identificar de una forma cualitativa la presencia de flavonoides y antocianinas.

Además se observó el comportamiento del extracto frente a una escala de pH con soluciones buffer en un rango de valores de pH del 1 al 14 con el fin de definir en qué rango de pH se encuentra el cambio de color.

Finalmente para establecer el punto final, se utilizó el extracto como indicador ácido-base en valoraciones ácido fuerte-base fuerte (HCl 0.1N – NaOH 0.1N) y ácido débil-base fuerte (CH₃COOH 0.1N – NaOH 0.1N), 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 obtener los valores de la primera derivada y así poder graficar $\Delta\text{pH}/\Delta V$ vrs Volumen (mL) para así obtener con mayor precisión el volumen necesario y establecer el punto final; también estos resultados fueron procesados para obtener los valores de la segunda derivada y de esta forma poder graficar $\Delta^2\text{pH}/\Delta^2V$ vrs Volumen (mL) esto con la finalidad de determinar gráficamente con mayor precisión el volumen necesario para establecer el punto de equivalencia.

Después de haber finalizado esta investigación propuesta, se concluye que, el extracto obtenido puede ser utilizado como indicador natural acido-base en titulaciones volumétricas en un rango de pH 3 a 4. Además se sugiere mantener el extracto a temperatura ambiente y a refrigeración para poder comparar resultados después de un determinado tiempo y así comprobar su estabilidad física.

CAPITULO I
INTRODUCCION

1.0 INTRODUCCION

Los indicadores ácido-base sintéticos son los que más se conocen, pero éstos producen contaminación en el ambiente; y debido a que no se cuenta en las instituciones con sistemas de eliminación de los desechos químicos producidos por éstos, es que una alternativa es sustituirlos por indicadores de origen natural, para disminuir el daño ambiental y además no producen ningún daño a la salud.

El país posee una gran vegetación que puede ser explotada, no solamente con fines farmacológicos, aditivos, colorantes textiles, etc.; también estas especies vegetales pueden ser utilizadas para extraer soluciones coloreadas y que además se utilicen como indicadores ácido-base de origen natural, ya que de esta manera se estaría proponiendo una alternativa ambiental al alcance de todos.

Es por ello que la presente investigación plantea la extracción y utilización de una solución a partir de los pétalos de las flores de *Delonix regia* (árbol de fuego) para ser aplicado como indicador en valoración ácido-base en medio acuoso.

La investigación se inició recolectando dentro del Campus Central de la Universidad de El Salvador las flores del árbol *Delonix regia*; seguidamente se llevó una porción de la muestra vegetal en estudio a un especialista para ser debidamente identificada, posteriormente, a la otra parte de la muestra se le realizó un tratamiento de limpieza, para la obtención de la solución fue de elección utilizar el método de maceración por un periodo de 8 días, luego al extracto obtenido se le hicieron diferentes pruebas con el fin de conocer si es ideal para utilizarlo como indicador ácido-base de origen natural; para empezar

al extracto se le hicieron pruebas presuntivas para apreciar el cambio de color frente a una solución ácida y una solución básica, también para saber en qué rango de pH está el viraje de color fue necesario observar su comportamiento en una escala de pH con soluciones buffer en una rango de valores del 1 al 14, finalmente utilizando el indicador obtenido se realizaron valoraciones ácido fuerte –base fuerte y ácido débil – base fuerte para visualizar el punto final y con los datos recolectados luego determinar gráficamente el punto de equivalencia.

El desarrollo de la investigación experimental se llevó a cabo en los laboratorios de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador en el año 2014.

CAPITULO II
OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

Proponer una solución extraída de los pétalos de las flores de *Delonix regia* (árbol de fuego), para ser aplicado como indicador en valoración Acido-Base en medio acuoso.

2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- 2.2.1 Identificar la planta en estudio por un experto en Botánica.
- 2.2.2 Obtener la solución coloreada a partir de los pétalos de las flores, por el método de maceración utilizando etanol al 90°, por un período de 8 días
- 2.2.3 Hacer pruebas químicas características, para verificar la presencia de flavonoides y antocianinas, a la muestra en estudio.
- 2.2.4 Realizar pruebas químicas con soluciones buffer en un rango de pH del 1-14 para determinar el rango de viraje del extracto obtenido.
- 2.2.5 Aplicar la solución extraída como indicador; en titulaciones con soluciones 0.1N de ácido clorhídrico, ácido acético e hidróxido de sodio.

CAPITULO III
MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEORICO

La presente investigación se realizó con los pétalos de las flores de *Delonix regia* (árbol de fuego) como planta de estudio.

A continuación se describe su respectiva taxonomía, descripción botánica y algunas generalidades de ésta.

3.1 TAXONOMIA DE *Delonix regia* (24, 27, 30)



Fig. N°1 Fotografía ilustrada de *Delonix regia*

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Fabales
Familia:	Fabaceae
Género:	Delonix
Especie:	regia
Nombre científico:	<i>Delonix regia</i>

Nombres comunes ^(10, 15):

En idioma castellano tiene varias denominaciones: En América Central se lo conoce como “Malinche”. En Argentina y Paraguay como “Chivato”; en Colombia y Honduras, se lo llama “Acacia roja”; en El Salvador y noroeste de México es conocido por “Árbol de fuego”; en República Dominicana, Cuba, Puerto Rico, en el sureste de México y Canarias se le llama “Flamboyán”; en el centro de México se le llama “Tabachin”.

3.1.1 Descripción botánica:

Tamaño ⁽²⁴⁾: Los *Delonix regia* alcanzan una altura media de unos 8 metros, aunque pueden llegar hasta los 12m. Su tronco es grueso y nudoso y su corteza gruesa y marrón grisácea. Su follaje es denso y muy extendido, en zonas con temporadas secas muy marcadas pierde las hojas, sin embargo, en condiciones menos rigurosas es perennifolio.

Las hojas ^(24, 25): miden de 30 a 50cm de largo, cada una tiene de 20 a 40 pares de folíolos primarios compuestos, también llamados pinnados y cada uno de éstos está dividido a su vez en 10 a 20 pares de folíolos secundarios.

Las flores ⁽²⁴⁾: Son grandes y muy vistosas y nacen en racimos de color rojo, provistas de cinco sépalos abiertos, y con cuatro pétalos de hasta 8cm de longitud y un quinto pétalo llamado el estándar, que es más largo y manchado de amarillo y blanco; cada flor posee 10 estambres con filamentos rojos y anteras amarillas; una variedad natural de *Delonix regia* llamada *flavida* tiene las flores amarillas.

Frutos ⁽²⁴⁾: vainas maduras son leñosas, de color castaño oscuro, de 60 cm de longitud y 5cm de ancho. Las semillas son oblongas, duras, colocadas transversalmente ⁽¹⁴⁾. Las vainas permanecen adheridas casi todo el año ⁽¹⁰⁾.

3.1.2 Generalidades

Propiedades ^(24, 25): La corteza se aplica macerada sobre las articulaciones, cuando se padecen dolores, también se utiliza la cocción de las flores administrada por vía oral para problemas respiratorios como tos y asma bronquial.

Origen ^(10, 14, 21, 28): Especie originaria de Madagascar, y es uno de los árboles ornamentales más extensamente cultivados y naturalizados en regiones tropicales y subtropicales en todo el mundo.

Ecología ⁽¹⁴⁾: Florea de abril a junio y fructifica de junio a diciembre.

Usos ⁽¹⁴⁾: Ornamental para lugares abiertos. Su madera es floja, poco durable y muy susceptible de ser destruida por insectos. La madera se usa poco en carpintería y construcción pues es muy susceptible al ataque del comején de la madera seca, restringiéndose su uso a leña, y carbón.

Composición química ⁽²⁾:

Cuadro N°1: Composición química de *Delonix regia*

	COMPOSICION QUIMICA	AREA DE LA PLANTA
COMPUESTOS ALIFATICOS	✓ Acido 4-aminobutanoico	Flores, brotes de flores y hojas
	✓ Ácido glioxilico	Flores y brotes de flores
	✓ Hentriacontano	Flores
	✓ 1-hentriacontanol	Flores
	✓ Ácido oxobutanoico	Flores y brotes de flores
	✓ Acido 2-oxopentanoico	Flores y brotes de flores
	✓ Acido pirúvico	Flores y brotes de flores

Cuadro N°1 (Continuación):

COMPUESTOS AROMATICOS	✓ Acido 3,4-dihidroxibenzoico	Flores
CARBOHIDRATOS	✓ Eritritol	Corteza
	✓ Rutina	Flores
FLAVONOIDES	✓ Crisantemina (cianidina-3-O-glucosidico)	Flores
	✓ Cianidina	Flores
	✓ Cianidina 3-soforosida	Flores
	✓ Isoquercitrina	Flores
	✓ Isosalipurposida	Flores
	✓ Kaempferol	Flores
	✓ Quercetina	Flores y corteza
	✓ Quercetina 3-arabinosido	Flores
TERPENOIDES	✓ Rutina	Flores
	✓ Lupeol	Corteza
ESTEROIDES	✓ Zeaxantina	Anteras de las flores
	✓ Daucosterol	Flores
AMINOACIDOS Y PEPTIDOS	✓ β -sitosterol	Flores y corteza
	✓ Acido 2-amino-4-metilpentanoico	Semillas
	✓ Acido 2-azetidincarboxilico	Semillas y hojas
	✓ Acido 3-hidroxi-2-pirrolidincarboxilico	Semillas
	✓ γ -metilglutamina	Semillas

3.2 METODOS ANALITICOS CUANTITATIVOS

Los resultados de un análisis cuantitativo típico se calculan a partir de dos medidas: (1) es la masa o volumen de la muestra que se analiza y (2) es la medida de alguna cantidad proporcional a la del analito en la muestra, como la masa, volumen, intensidad luminosa o carga eléctrica. En esta segunda medida, generalmente, completa el análisis y su naturaleza sirve de base para clasificar los métodos analíticos:

- Métodos gravimétricos
- Métodos volumétricos
- Métodos electroanalíticos
- Métodos espectroscópicos

3.2.1 Métodos volumétricos ⁽¹⁶⁾

Las valoraciones incluyen a un numeroso y poderoso grupo de procedimientos cuantitativos que se basan en la medida de la cantidad de un reactivo de concentración conocida, que es consumida por un analito. Las “valoraciones volumétricas” consisten en la medida del volumen de una solución de concentración conocida necesaria, para reaccionar completamente con el analito. Por otro lado, las “valoraciones gravimétricas” difieren únicamente en que se mide la masa del reactivo en lugar del volumen. En las “valoraciones coulombimétricas”, el reactivo es una corriente constante de magnitud conocida que consume el analito; en este caso, lo que se mide es el tiempo necesario (y, por tanto, la carga total) para completar la reacción electroquímica.

3.2.2 Aspectos generales de los métodos volumétricos ^(16, 17)

Solución patrón

Una solución patrón (o valorante) es un reactivo de concentración conocida que se usa para llevar a cabo una valoración. La valoración se lleva a cabo añadiendo lentamente la solución patrón sobre la solución problema hasta que la reacción se complete. El volumen o masa del reactivo necesario para completar la reacción se determina por diferencias entre las lecturas inicial y final.

Las soluciones patrón de ácidos y bases fuertes se usan ampliamente para determinar analitos que por sí mismos son ácidos o bases o que se pueden convertir en estas especies. Las soluciones patrón que se emplean en las valoraciones ácido-base son soluciones de ácidos y bases fuertes, ya que reaccionan más completamente con un analito que las especies débiles, de manera que se obtienen puntos finales más definidos.

Puntos de equivalencia y puntos finales

En una valoración, el punto de equivalencia se alcanza cuando la cantidad de patrón agregado es químicamente equivalente a la cantidad de analito presente en la muestra. El punto de equivalencia, es un punto teórico que no puede determinarse experimentalmente, solo podemos estimar su posición observando un cambio físico asociado a la condición de equivalencia. A este cambio se le conoce como: punto final de la valoración.

La diferencia de volumen o masa entre el punto de equivalencia y el punto final, es el error de la valoración. Normalmente es posible estimar el error de la valoración, con una valoración de blanco, que consiste en realizar el mismo procedimiento pero sin el analito.

Para detectar los puntos de equivalencia se suelen añadir indicadores a las soluciones que contienen el analito a valorar. En el punto de equivalencia se producen cambios en la aparición de la solución como: aparición o desaparición de color, cambio de color, aparición de turbidez, etc. estos cambios indican que el punto de equivalencia se ha alcanzado.

En muchos casos se utilizan instrumentos para detectar el punto final. Los instrumentos responden a propiedades de la solución que se modifican de una manera característica durante la valoración.

3.2.3 Requisitos para los análisis volumétricos (23, 29)

Como la base de cualquier método volumétrico es una reacción química, hay ciertos requisitos para que las mismas puedan ser utilizadas para un método volumétrico:

1. La reacción debe ser sencilla y estequiométrica, puesto que esta sirve de base a los cálculos.

2. La reacción entre la solución valorante y la valorada debe ser rápida para que el proceso de valoración se haga en poco tiempo.
3. La reacción debe ser completa en el momento en que se hayan añadido cantidades equivalentes, pues esto permite realizar los cálculos.
4. Debe disponerse de una solución estándar como reactivo valorante.
5. Debe disponerse de un indicador para detectar el punto final de la valoración.

3.3 VALORACIONES ACIDO-BASE ^(3, 7)

La titulación o valoración de soluciones tiene como principal objetivo determinar la concentración de una solución ácida o básica desconocida denominada solución analizada. Los principales requisitos de una reacción para que sirva de base a una valoración son: que tenga una constante de equilibrio grande y que transcurra rápidamente. Es decir, cada nuevo incremento de valorante debe consumirse completa y rápidamente por el analito hasta su total agotamiento. Las valoraciones más comunes están basadas en reacciones ácido-base, oxidación-reducción, formación de complejos y precipitación.

Cuando se habla de una reacción ácido-base se está hablando del tipo de cambio que ocurre cuando se mezclan una solución ácida y una solución básica. La titulación ácido-base es una técnica que se utiliza con frecuencia en el laboratorio. La reacción entre un ácido y una base se denomina neutralización.

Según el carácter del ácido y de la base reaccionante se distinguen cuatro casos:

1. ácido fuerte + base fuerte
2. ácido débil + base fuerte
3. ácido fuerte + base débil
4. ácido débil + base débil

Análisis volumétricos

Un análisis volumétrico es cualquier procedimiento basado en la medida del volumen de reactivo necesario para que reaccione con el analito.

La validez de un resultado analítico depende de que se sepa la cantidad de uno de los reactivos usados. La concentración del valorante se conoce si fue preparada disolviendo una cantidad conocida de reactivo puro en un volumen conocido de solución. En ese caso, el reactivo se llama un “patrón primario”, porque es suficientemente puro para ser pesado y usado directamente. Un patrón primario debe tener una pureza de 99.9% o más. No debe descomponerse en las condiciones normales de almacenamiento, y debe ser estable al calor y al vacío, porque es preciso secarlo, para eliminar trazas de agua adsorbida de la atmósfera.

De muchos valorantes usados, no se dispone de un patrón primario. En su lugar, se usa una solución que tiene aproximadamente la concentración deseada y se valora con un patrón primario. Por este procedimiento llamado “estandarización”, se determina la concentración del valorante destinado a un análisis. Se dice entonces que el valorante es una “solución estándar”. En todos los casos la validez de los resultados analíticos, en definitiva, dependen de la composición de un patrón primario.

3.3.1 Curvas de valoración ⁽¹⁶⁾

Como se sabe, el punto final, es el cambio físico observable que ocurre cerca del punto de equivalencia de una valoración. Los dos puntos finales más usuales implican: (1) Cambios de color debidos a un reactivo, analito o indicador, y (2) Cambio del potencial de un electrodo que responde a la concentración del reactivo o analito.

Para entender los fundamentos teóricos de los puntos finales y las fuentes de error en las valoraciones, se calculan los puntos necesarios para elaborar una curva de valoración para el sistema. En esta curva el volumen del reactivo se representa gráficamente en el eje horizontal y alguna función del analito o concentración del reactivo en el eje vertical.

3.3.2 Tipos de curvas de valoración ⁽¹⁶⁾

En los métodos volumétricos se utilizan dos tipos de curvas de valoración (y por tanto, dos tipos generales de puntos finales).

- En el primer tipo, llamado “curva sigmoidea”, las observaciones importantes se hallan en una pequeña región (normalmente de ± 0.1 a ± 0.5 mL) alrededor del punto de equivalencia.
- En el segundo tipo, llamado “curva de segmento lineal”, se realizan medidas a ambos lados y bien alejadas del punto de equivalencia. Las medidas cerca de la equivalencia se evitan. En este tipo de curva, el eje vertical representa la lectura de un instrumento que es directamente proporcional a la concentración del analito o reactivo.

A) Curva de valoración de un ácido fuerte con una base fuerte

Los iones hidronios en solución acuosa de un ácido fuerte tienen dos orígenes: (1) la reacción del ácido con el agua y (2) la disociación del agua misma. Sin embargo, en todas las soluciones salvo en las más diluidas, la contribución del ácido fuerte excede con mucho la del disolvente

Para construir la curva hipotética que resulta de valorar una solución de un ácido fuerte con una base fuerte se deben efectuar tres tipos de cálculos. Cada uno de ellos corresponde a una etapa distinta de la valoración:

1. Preequivalencia: En esta etapa, la concentración del ácido se calcula a partir de su concentración inicial y la concentración de base que se añade.

2. Equivalencia: Aquí los iones hidronio e hidróxido están presentes en concentraciones iguales, y la concentración de iones hidronio se deriva directamente de la constante del producto iónico del agua.
3. Postequivalencia: En esta etapa se determina la concentración la concentración analítica del exceso de la base, y se supone que la concentración de iones hidróxido es igual a la analítica o a un múltiplo de ésta

B) Curva de valoración de ácidos débiles con bases fuertes

Para una curva de valoración de un ácido débil (o una base débil), se necesitan cuatro tipos de cálculos claramente distintos:

1. Al principio, la solución contiene solo un ácido débil, o bien una base débil, y el pH se calcula a partir de la concentración de ese soluto y su constante de disociación.
2. Tras añadir varias fracciones del valorante (hasta cantidades muy cercanas, pero no iguales, a la cantidad equivalente), la solución consiste en una serie de amortiguadores. El pH de cada amortiguador se calcula a partir de las concentraciones analíticas de la base o del ácido conjugado y de las concentraciones residuales de la base o el ácido débil.
3. En el punto de equivalencia, la solución contiene solo el conjugado del ácido o de la base débil que se valora (es decir, una sal), y el pH se calcula a partir de la concentración de este producto.
4. Después del punto de equivalencia, el exceso del ácido o base fuerte valorante proporciona al producto de la reacción la naturaleza ácida o básica, en una extensión tal que el pH de la solución viene determinado mayoritariamente por el exceso de valorante.

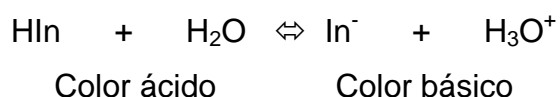
C) Curva de valoración de bases débiles con ácidos fuertes

Los cálculos necesarios para trazar la curva de valoración de una base débil, son semejantes a los de un ácido débil solo que de una manera invertida

3.4 INDICADORES ACIDO-BASE Y NATURALEZA DEL COLOR (7, 16, 17)

Un indicador ácido-base es también un sistema ácido-base cuyas especies en diferentes estados de protonación tienen diferentes colores.

Muchas sustancias presentan colores que dependen del pH. Algunas de estas sustancias se utilizan como indicadores. Un indicador ácido-base es un ácido orgánico o una base orgánica débil cuya forma disociada tiene un color diferente al de su base o ácido conjugados. Así, el siguiente equilibrio describe el comportamiento de un indicador ácido típico (HIn):



En este caso, la disociación del indicador se acompaña de cambios en su estructura interna y un cambio de color asociado. El equilibrio de un indicador básico (In) sería:



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

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

Que al reordenarse, se tiene:

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

La concentración del ion hidronio determina la relación del ácido y la base conjugada del indicador y, por tanto, determina el color que desarrolla la solución.

El ojo humano es poco sensible para apreciar diferencias de color en soluciones que contienen una mezcla de HIn e In^- , en particular cuando la relación $[\text{HIn}] / [\text{In}^-]$ es mayor que 10 o menor que 0.1. Por consiguiente, el cambio de color que detecta el observador medio ocurre dentro de un intervalo limitado de relaciones de concentración aproximadamente de 10 a casi 0.1.

A concentraciones menores o mayores que éstas, el color parece constante para el ojo humano y es independiente de la concentración. Se puede afirmar que el indicador promedio HIn exhibe su color ácido puro cuando:

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

Y su color básico puro cuando:

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

El color parece ser intermedio para relaciones entre estos dos valores. Estas relaciones varían considerablemente de un indicador a otro. Si se sustituyere en la siguiente ecuación:

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

Las dos relaciones de concentración; se puede calcular la concentración de ion hidronio necesaria para que cambie de color el indicador. Así, para el color ácido puro:

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

Y, de la misma manera, para el color alcalino puro:

$$[\text{H}_3\text{O}^+] = 0.1K_a$$

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

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

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

$$\text{Intervalo de pH del indicador} = \text{p}K_a \pm 1$$

Por tanto, un indicador con una constante de disociación ácida, muestra un típico cambio total de color cuando el pH de la solución en la que esta disuelto cambia.

Variables que influyen en el comportamiento de los indicadores

La temperatura, la fuerza iónica del medio y la presencia de disolventes orgánicos, y de partículas coloidales influyen en el intervalo de pH en el que un indicador dado, presenta un cambio de color. Algunos de estos efectos, en particular los dos últimos, pueden ocasionar que el intervalo de viraje se desplace una o dos unidades de pH.

3.4.1 Indicadores ácido-base sintéticos ⁽¹⁹⁾

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 primer 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 etc, 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).

El segundo indicador ácido-base de este tipo en ser empleado, fue el rojo Congo, descubierto por Böttiger en 1884. Después se usarían el rojo de metilo (introducido por Rupp y Loose en 1908), amarillo de alizarina etc. de estructura algo diferente entre los colorantes azoicos.

Indicadores ácido-base más comunes

La lista de indicadores ácido-base es grande y abarca diversos compuestos orgánicos. Están disponibles para casi cualquier intervalo de pH que interese.

Algunos indicadores muy utilizados son: (Ver figura N° 2)

INDICADOR	COLOR ÁCIDO	COLOR BÁSICO	INTERVALO DE pH DE CAMBIO DE COLOR
Azul de timol	Rojo	Amarillo	1,2 - 2,8
Naranja de metilo	Rojo	Amarillo	3,2 - 4,4
Azul de bromofenol	Amarillo	Violeta	3,0 - 4,6
Rojo congo	Azul	Rojo	3,0 - 5,0
Rojo de metilo	Rojo	Amarillo	4,2 - 6,3
Azul de bromotimol	Amarillo	Azul	6,0 - 7,6
Tornasol	Rojo	Azul	6,0 - 8,0
Azul de timol	Amarillo	Azul	8,0 - 9,6
Fenolftaleína	Incoloro	Rosa	8,2 - 9,8
Amarillo de alizarina	Amarillo	Violeta	10,0 - 12,1

Fig. N° 2 Indicadores sintéticos más comunes

3.4.2 Indicadores acido-base naturales ^(18, 26)

Aunque el primer indicador ácido-base sintético (fenolftaleína) no fue introducido hasta 1877, el uso de indicadores ácido-base naturales se remonta muchos años atrás. La primera referencia conocida es debida a Robert Boyle en 1664, quien escribió su libro "The Experimental History of Colours".

En ella se inicia el reconocimiento de ácidos y bases a través de los cambios de color de extractos de plantas. A partir de Boyle, el cambio de color del jarabe de violetas, sirvió para indicar la presencia de un ácido; en este momento nacen los indicadores químicos.

En 1671, Duclós llama "turnesol" (litmus), a un indicador extraído de líquenes, que le da un gran resultado. Casi cien años después, James Watt, el inventor de la máquina de vapor y nominador del caballo de vapor como unidad de potencia, descubre que la lombarda (col roja) es uno de los mejores indicadores.

Los indicadores ácido–base naturales son aquéllos extraídos directamente de fuentes vegetales (como los pétalos de las flores), mediante métodos de extracción. Se deben fundamentalmente a la proporción que contengan de los pigmentos naturales conocidos como antocianinas y antoxantinas. La antocianina es roja en medio ácido, púrpura en medio neutro y azul en medio básico, sin embargo la antoxantina es amarilla en medio básico. La proporción en que se encuentre la mezcla de pigmentos hace que las flores tengan distintos colores y que se puedan modificar según el pH del medio.

3.5 ANTOCIANINAS (12, 15)

El término antocianina fue utilizado por Marquat en 1835 para designar a los pigmentos azules de las flores. Más tarde se descubrió que no solo el color azul, sino que también el púrpura, violeta, magenta y que todos los tonos de rojo, rosado, escarlata, que aparecen en muchas flores, frutos y algunas hojas y raíces de plantas, se deben a pigmentos químicamente similares a las antocianinas de Marquat. En 1913, Willstätter y Everest propusieron que el término antocianina se aplicara para el glicósido y el de antocianidina para la aglicona.

Las antocianinas son pigmentos hidrosolubles ampliamente distribuidos en el reino vegetal, están constituidos por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace β -glicosídico, y en algunos por un enlace α -glicosídico. La estructura química fundamental de estas agliconas es el ión flavilio (o catión 2-fenilbenzopirilio). (Ver figura N° 3)

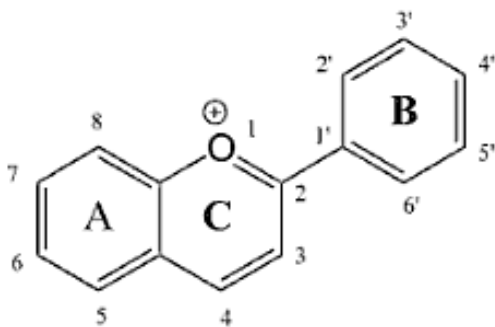


Fig. N° 3 Estructura fundamental del catión flavilio

Hay seis antocianidinas (agliconas de las antocianinas) comunes, siendo la cianidina la más común y responsable del color magenta, los colores rojo-naranja se deben a la pelargonidina (con un grupo hidroxilo menos que la cianidina), mientras que los colores violeta y azul a la delphinidina (con un grupo hidroxilo más).

El color de las antocianinas depende de varios factores intrínsecos, como son los sustituyentes químicos que contenga y la posición de los mismos en el grupo flavilio; por ejemplo, si se aumentan los hidroxilos (OH) del anillo fenólico se intensifica el color azul, mientras que la introducción de metoxilos (CH₃O) provoca la formación de los tonos rojos.

Debido a la deficiencia electrónica (carga positiva) del núcleo flavilio, estos pigmentos funcionan como verdaderos indicadores de pH: es decir, su color depende de las condiciones de acidez o alcalinidad del sistema en que se encuentran: a pH ácidos adquieren una estructura estable de catión flavilio rojo, representado por la fórmula (I); cuando se incrementa el pH, la distribución electrónica se modifica hasta llegar a la forma quinoidal azul (II); la hidratación del flavilio produce la base carbinol incolora (III), (Ver figura N° 4)

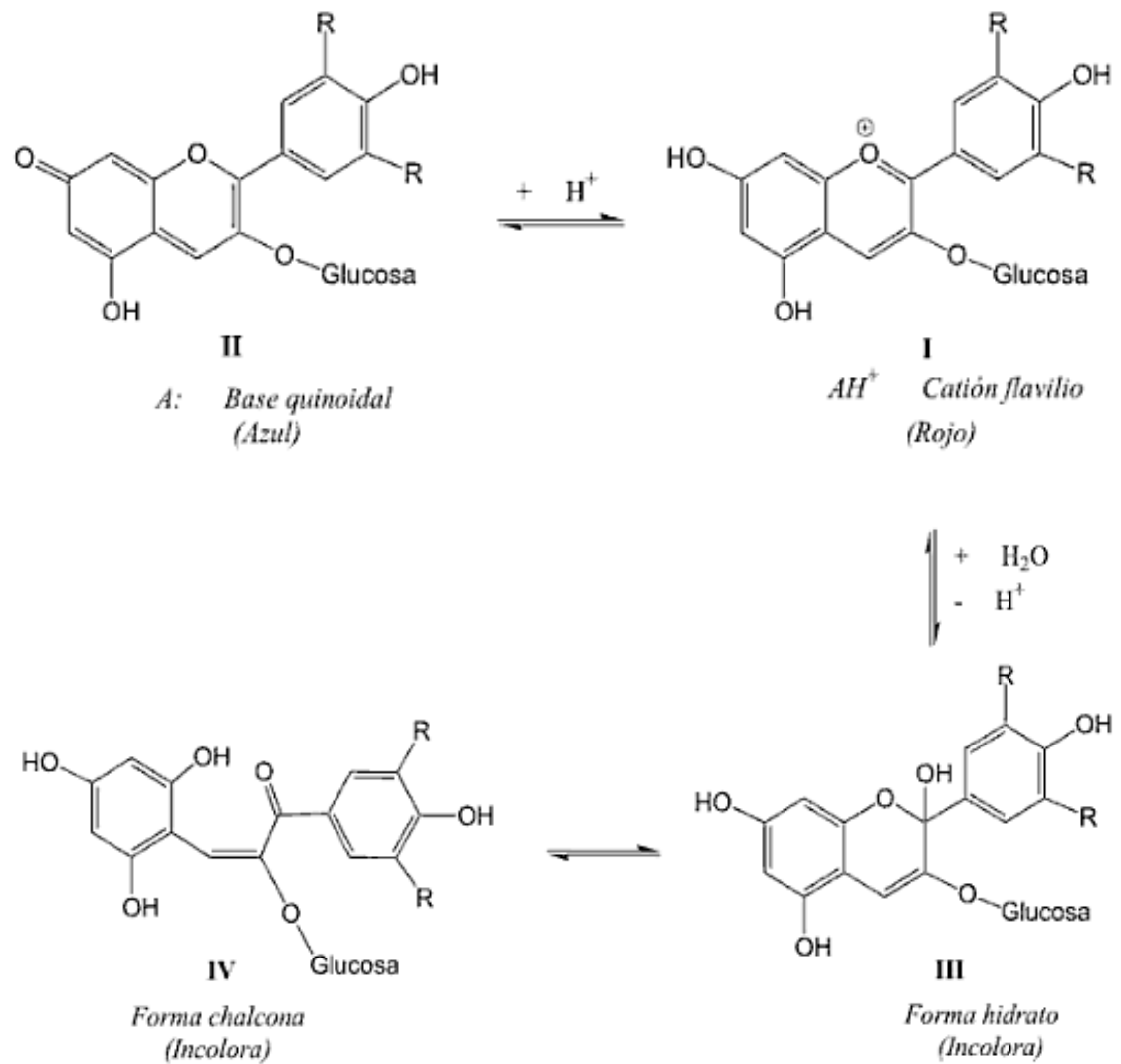


Fig. N° 4 Cambios estructurales de las antocianinas con el pH

3.6 CONTAMINACIÓN Y RESIDUOS TÓXICOS (9, 13)

LA CONTAMINACION (9, 13)

La contaminación y los residuos tóxicos son un aspecto más del mal entendido “progreso”. El ser humano no se da cuenta de la magnitud del problema. Convive diariamente con miles de sustancias químicas que llegan a él a través del agua, aire, tierra y los productos que consume. Actualmente, hay entre 80.000 y 120.000 compuestos químicos sintéticos en producción y se liberan al mercado un promedio de 3 nuevos químicos sintéticos por día. Hay muy poca información sobre muchos de estos compuestos y su impacto en el ambiente y la salud de las personas.

Cada sustancia afecta de una manera determinada al ser humano. Muchas de ellas no se degradan, sino que persisten y se acumulan en el organismo. Irritaciones en los ojos y en otros tejidos sensibles, problemas respiratorios, daños en el sistema neurológico, en el sistema inmunitario, en el corazón y en los riñones.

LOS RESIDUOS TOXICOS (9, 13)

La cantidad de residuos peligrosos producidos por la humanidad asciende a miles de millones de toneladas. Los residuos tóxicos conservan su letalidad hasta en pequeñísimas dosis a lo largo de decenios.

El origen de los residuos "especiales" y las emisiones de sustancias tóxicas no es otro que la utilización de materias primas y procesos tóxicos en la producción industrial. Hasta hace muy poco tiempo los residuos se depositaban, sin más, en vertederos, ríos, mares o cualquier otro lugar que se encontrara cerca.

Durante varios decenios se han seguido eliminando por el simple sistema del vertido. Se hacía esto incluso con la cada vez mayor cantidad de sustancias químicas tóxicas que se producen.

Pero se ha ido comprobando, con el transcurso del tiempo, las graves repercusiones para la higiene y la salud de las personas y los importantes impactos negativos sobre el ambiente que tiene este sistema de eliminación de residuos.

El problema se agrava porque la creciente actividad industrial genera muchos productos que son tóxicos o muy difíciles de incorporar a los ciclos de los elementos naturales. En varias ocasiones los productos químicos acumulados en vertederos, que después han sido recubiertos de tierra y utilizados para construir viviendas sobre ellos, han causado serios problemas, incluso dañando la salud de las personas.

CRITERIOS PARA ESTABLECER LA PELIGROSIDAD DE LAS SUSTANCIAS E IDENTIFICACION DE SUSTANCIAS QUE PUEDEN GENERAR RIESGO AMBIENTAL A TRAVES DE SUS DESECHOS

Para establecer los criterios para determinar el grado de peligrosidad y la evaluación del riesgo ambiental, es necesario revisar los conceptos legales establecidos en la Ley del Medio Ambiente ⁽⁹⁾ y el Reglamento Especial en Materia de Sustancias, Residuos y Desechos Peligrosos ⁽¹³⁾ relacionados con la gestión de los materiales peligrosos y el riesgo ambiental.

A continuación se presentan algunas definiciones establecidas en el artículo 5, de dicha Ley (ley del Medio Ambiente) ⁽⁹⁾:

SUSTANCIAS PELIGROSAS: Todo material con características corrosivas, reactivas, radioactivas, explosivas, tóxicas, inflamables o con actividad biológica.

DESECHOS PELIGROSOS: Cualquier material sin uso directo o descartado permanentemente que por su actividad química o por sus características corrosivas, reactivas, inflamables, tóxicas, explosivas, combustión espontánea,

oxidante, infecciosas, bioacumulativas, ecotóxicas o radioactivas u otras características, que ocasionen peligro o ponen en riesgo la salud humana o el ambiente, ya sea por si solo o al contacto con otro desecho.

CONTAMINANTE: Toda materia, elemento, compuesto, sustancias, derivados químicos o biológicos, energía, radiación, vibración, ruido, o una combinación de ellos en cualquiera de sus estados físicos que al incorporarse o actuar en la atmósfera, agua, suelo, flora, fauna o cualquier otro elemento del ambiente, altere o modifique su composición natural y degrade su calidad, poniendo en riesgo la salud de las personas y la preservación o conservación del ambiente.

DAÑO AMBIENTAL: Toda pérdida, disminución, deterioro o perjuicio que se ocasione al ambiente o a uno o más de sus componentes, en contravención a las normas legales. El daño podrá ser grave cuando ponga en peligro la salud de grupos humanos, ecosistema o especies de flora y fauna e irreversible, cuando los efectos que produzca sean irreparables y definitivos.

Por su parte, otras definiciones complementarias para la gestión de los materiales peligrosos se encuentran en el Art. 3 del Reglamento Especial en Materia de Sustancias, Residuos y Desechos Peligrosos, siendo las siguientes:

EFLUENTE DE DESECHOS PELIGROSOS: fluido residual que contiene desechos peligrosos.

ENVASE DE SUSTANCIAS, RESIDUOS O DESECHOS PELIGROSOS: Recipientes en que se depositan, conservan o transportan sustancias, residuos o desechos peligrosos.

GENERADOR: Toda persona natural o jurídica que a consecuencia de la manipulación o de los procesos que realicen, produzcan residuos o desechos peligrosos.

RESIDUO PELIGROSO: Material que reviste características peligrosas, que después de servir a un propósito específico todavía conserva propiedades físicas y químicas útiles, y por lo tanto puede ser reusado, reciclado, regenerado o aprovechado con el mismo propósito u otro diferente.

TRATAMIENTO DE DESECHOS PELIGROSOS: Se refiere a cualquier proceso o método destinado a modificar las características físicas, químicas o biológicas con el fin de disminuir su peligrosidad o de reducir su volumen.

El peligro asociado a las sustancias químicas está en función de las características fisicoquímicas y/o biológicas de las mismas, y a la forma insegura en la que se pueden transportar, almacenar o utilizar.

De lo anterior, el riesgo ambiental de las sustancias químicas está relacionado con la probabilidad de que esas sustancias puedan causar daños a la salud o el medio ambiente.

Para establecer la peligrosidad e identificar las sustancias con potencial riesgo ambiental, se han considerado para cada una de ellas, las características contempladas en el Reglamento Especial en Materia de Sustancias, Residuos y Desechos Peligrosos, siguiendo el sistema de clasificación internacional de las naciones unidas. La Ley establece en forma general la clasificación siguiente: Corrosivo, Reactivo, Radioactivo, Explosivo, Tóxico, Inflamable o con actividad biológica (biológico infecciosos).

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLOGICO

4.0 DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 TIPO DE ESTUDIO

- Retrospectivo: Porque la investigación se basa en estudios realizados en el pasado (antecedentes), sobre indicadores ácido-base.
- Prospectivo: Porque los acontecimientos a lo largo de toda la investigación se registran según ocurren los fenómenos y pueden ser utilizados en un Futuro.
- Experimental: Porque para la ejecución práctica de la investigación se hará siguiendo procesos diseñados para ser realizados en los laboratorios de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador

METODOLOGIA

El desarrollo de la siguiente investigación será de la siguiente manera:

- Investigación bibliográfica
- Investigación de campo
- Parte experimental

4.2. Investigación bibliográfica

Esta investigación se realizó en los siguientes lugares:

- Biblioteca Central de la Universidad de El Salvador.
- Biblioteca Benjamín Orozco de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
- Biblioteca de la Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer (USAM).
- Biblioteca de la Universidad Nueva San Salvador (UNSSA).
- Internet

4.3 Investigación de campo:

Universo: Árboles de fuego (*Delonix regia*) dentro del Campus Central de la Universidad de El Salvador.

Muestra: Pétalos de las flores de *Delonix regia* (árbol de fuego), de la zona seleccionada.

Tipo de muestreo:

Dirigido y Puntual, la recolección de la muestra se realizó en la Facultad de Ciencias Económicas del Campus Central de la Universidad de El Salvador, ya que en el momento de la recolección fué el árbol que presentaba mayor florescencia.

Identificación de la planta

Una vez recolectadas las flores de *Delonix regia* (árbol de fuego) se procedió a tomar una muestra representativa de ellas y se llevaron a un experto en Botánica para su apropiada identificación taxonómica.

Preparación de la muestra

Después de recolectar aproximadamente 300 g de flores de *Delonix regia* (árbol de fuego), se seleccionaron las flores en mejor estado, se retiraron los pétalos con cuidado y se colocaron en un recipiente; luego se les realizó un lavado con agua potable y agua destilada, para lograr eliminar cualquier tipo de impurezas que pudieran interferir en los análisis, y finalmente se dejaron secar sobre papel toalla por un tiempo de 45 min para absorber el exceso de humedad.

4.4 Parte experimental

A continuación se indica el esquema de trabajo de la parte experimental:

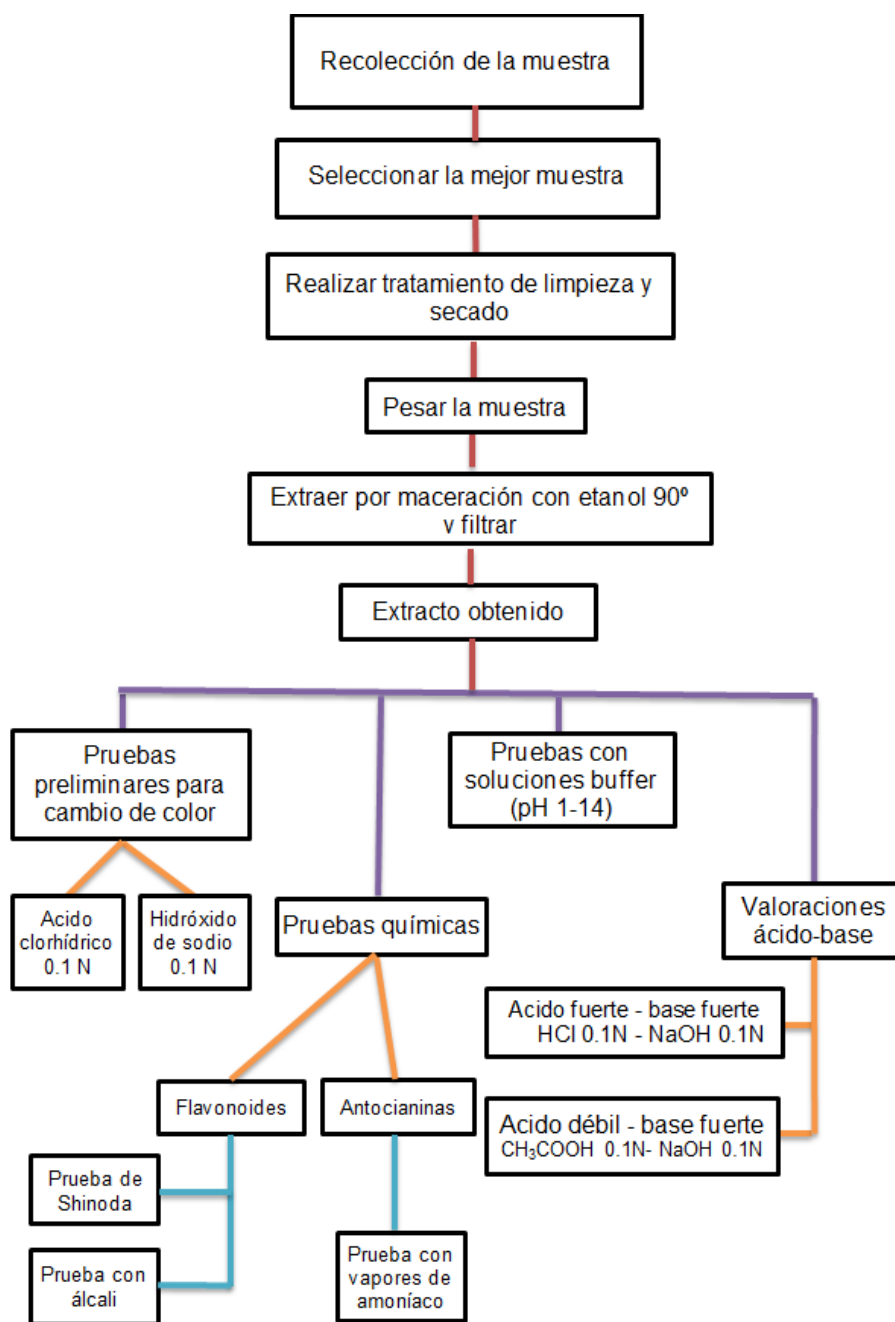


Figura Nº 5: Esquema del proceso metodológico de la parte experimental para la planta estudiada.

4.4.1 Proceso de extracción para la obtención del extracto (1, 8, 11):

Procedimiento general:

1. Pesar en balanza analítica, aproximadamente 100 g de muestra de pétalos de *Delonix regia*, previamente secada.
2. Colocar la muestra en un frasco de vidrio color ámbar y añadir 250 mL de etanol 90°, como solvente extractor.
3. Guardar en un recipiente de vidrio, color ámbar completamente cerrado.
4. Dejar macerar por un período de 8 días a temperatura ambiente.
5. Filtrar el extracto al transcurrir el período.
6. Utilizar este extracto en temperatura ambiente en un lapso de tiempo no más de 3 meses.

4.4.2 Pruebas Preliminares (1, 8, 11)

Al extracto obtenido de la especie en estudio, se le realizaron pruebas preliminares con ácido fuerte (ácido clorhídrico 0.1N) y base fuerte (hidróxido de sodio 0.1N); para evidenciar si hay cambio de color en los extractos en medio ácido y en medio básico.

Procedimiento general:

Prueba con solución HCl 0.1N

1. Rotular un tubo de ensayo con el nombre del extracto de la especie a estudiar.
2. Medir en una probeta de 10 mL un volumen de 8 mL del extracto, de la especie en estudio y agregarlos en el tubo de ensayo rotulado.
3. Añadir al tubo un volumen de 2 mL HCl 0.1N.
4. Observar el cambio de coloración de la solución.

Prueba con solución NaOH 0.1N

1. Rotular un tubo de ensayo con el nombre del extracto de la especie a estudiar.
2. Medir en una probeta de 10 mL un volumen de 8 mL del extracto, de la especie en estudio y agregarlos en el tubo de ensayo rotulado.
3. Añadir al tubo un volumen de 2 mL NaOH 0.1N.
4. Observar el cambio de coloración de la solución.

4.4.3 Pruebas químicas generales características para la presencia de flavonoides (3, 6, 22)

a) Prueba de Shinoda o de la Cianidina.

Procedimiento general:

1. Medir 5.0 mL de extracto alcohólico, concentrado y filtrado previamente en una probeta de 10 mL y agregarlos en un tubo de ensayo debidamente rotulado.
2. Luego añadir en el tubo de ensayo una laminitas de magnesio y 1.0 mL de ácido clorhídrico concentrado.
3. Finalmente observar las variaciones de color al momento de adicionar el ácido.

El desarrollo de una coloración rosada, salmón hasta rojo cereza, indican reacción positiva para flavonas, flavonoles, flavanonas y flavanonoles.

b) Prueba con álcali

Procedimiento general:

1. Pesar 5 g de muestra, colocarlas en un beaker conteniendo 50.0 mL de agua destilada, calentar en baño de vapor por 10 minutos, filtrar y concentrar hasta 10 mL.

2. Luego en un tubo de ensayo colocar 5 mL de extracto y añadir 1 mL de una solución de NaOH 0.1 N.
3. Se desarrolla una coloración variable.

4.4.4 Prueba química general característica para la presencia de antocianinas (5, 6, 22)*

a) Prueba con vapores de amoníaco:

Seleccionar un pétalo de la flor de *Delonix regia* (Árbol de fuego) recolectada y exponerla a vapores de amoníaco mediante el siguiente proceso.

Procedimiento General:

1. Dentro de una Cámara de Extracción de Vapores, medir 5 mL de amoníaco con una probeta de 10 mL y transferirlo a un vaso de precipitado de 10 mL.
2. Colocar sobre el vaso de precipitado el pétalo y sobre éste un vidrio reloj.
3. Observar coloración.

4.4.5 Pruebas con soluciones buffer 1 - 14 (1, 8, 11)

Procedimiento general:

1. Preparar las soluciones buffer a diferentes pH (1 a 14) según USP 35 (ver anexo N° 4)
2. Rotular 14 tubos de ensayos
3. Añadir 5.0 mL de solución buffer correspondiente, medidos con pipeta volumétrica a cada tubo de ensayo.
4. Adicionar 1.0 mL del extracto de la muestra de *Delonix regia* a cada uno de los tubos anteriores.
5. Observar las diferentes coloraciones.

4.4.6 Valoraciones ácido-base (1, 8, 11)

A) Acido Fuerte - Base Fuerte

Ácido clorhídrico (HCl) 0.1N – Hidróxido de sodio (NaOH) 0.1N

Procedimiento general:

1. Llenar una bureta de 50.0 mL con ácido clorhídrico (HCl) 0.1N.
2. Calibrar el pH-metro (pH 4, 7 y 10)
3. Colocar con una pipeta volumétrica 25.0 mL de hidróxido de sodio (NaOH) 0.1N en un beaker con capacidad para 250 mL
4. Adicionar al beaker anterior 3 gotas de indicador natural (muestra de *Delonix regia*).
5. Colocar un electrodo dentro del beaker para tomar las lecturas de pH, utilizando un pH-metro.
6. Tomar lectura del pH inicial.
7. Titular con ácido clorhídrico (HCl) 0.1N, añadir volúmenes de 5.0 mL hasta gastar 20.0 mL, luego añadir cuidadosamente y con agitación constante volúmenes de 1.0 mL hasta gastar 30.0 mL para observar el punto final (cambio de color) seguidamente añadir volúmenes de 5.0 mL hasta los 40.0mL para terminar la titulación.
8. Al momento de agregar cada cantidad de volumen del titulante, realizar la lectura en el pH-metro.
9. Verificar el punto final de la titulación, observando el viraje de color y realizar la lectura exacta tanto de los mililitros gastados del titulante como de la lectura del pH-metro.
10. Realizar 4 valoraciones más, siguiendo los pasos del 3 al 9 para luego sacar la media de los valores de pH.
11. Elaborar la curva de titulación ácido fuerte – base fuerte (pH vrs volumen)

12. Realizar los cálculos para la obtención de los siguientes datos:

$$\Delta V = mL_2 - mL_1$$

$$\Delta pH = pH_1 - pH_2$$

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

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

13. Graficar la curva de la primera derivada ($\Delta pH / \Delta V$ vrs volumen)

14. Graficar la curva de la segunda derivada ($\Delta^2 pH / \Delta^2 V$ vrs volumen)

B) Acido débil - base fuerte

Ácido acético (CH_3COOH) 0.1N – Hidróxido de sodio ($NaOH$) 0.1N

Procedimiento general:

1. Llenar una bureta de 50.0 mL con ácido acético (CH_3COOH) 0.1N.
2. Calibrar el pH-metro (pH 4, 7 y 10)
3. Colocar con una pipeta volumétrica 25.0 mL de hidróxido de sodio ($NaOH$) 0.1N en un beaker con capacidad para 250 mL
4. Adicionar al beaker anterior 3 gotas de indicador natural (muestra de *Delonix regia*).
5. Colocar un electrodo dentro del beaker para tomar las lecturas de pH, utilizando un pH-metro.
6. Tomar lectura del pH inicial.
7. Titular con ácido acético (CH_3COOH) 0.1N, añadir volúmenes de 5.0 mL hasta gastar 20.0 mL, luego añadir cuidadosamente y con agitación constante volúmenes de 1.0 mL hasta gastar 30.0 mL para observar el punto final (cambio de color) seguidamente añadir volúmenes de 5.0 mL hasta los 40.0mL para terminar la titulación.
8. Al momento de agregar cada cantidad de volumen del titulante, realizar la lectura en el pH-metro.

9. Verificar el punto final de la titulación, observando el viraje de color y realizar la lectura exacta tanto de los mililitros gastados del titulante como de la lectura del pH-metro.
10. Realizar 4 valoraciones más, siguiendo los pasos del 3 al 9 para luego sacar la media de los valores de pH.
11. Elaborar la curva de titulación ácido débil – base fuerte (pH vrs volumen)
12. Realizar los cálculos para la obtención de los siguientes datos:
$$\Delta V = mL_2 - mL_1$$
$$\Delta pH = pH_1 - pH_2$$
Primera Derivada = $\Delta pH / \Delta V$
$$\text{Segunda Derivada} = \Delta^2 pH / \Delta^2 V = (\Delta pH / \Delta V)_2 - (\Delta pH / \Delta V)_1$$
13. Graficar la curva de la primera derivada ($\Delta pH / \Delta V$ vrs volumen)
14. Graficar la curva de la segunda derivada ($\Delta^2 pH / \Delta^2 V$ vrs volumen)

CAPITULO V
RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

5.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1 IDENTIFICACION BOTANICA

Al realizar la identificación botánica de la especie vegetal en estudio, un experto en plantas hizo constar que la especie utilizada en esta investigación, se identifica como *Delonix regia* (Bojer ex Hook), conocida como “flor de fuego” o “malinche”. (Ver anexo N°1)

5.2 PROCESO DE EXTRACCIÓN PARA LA OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE LAS FLORES DE *Delonix regia*.

Luego de la identificación de la planta en estudio, se procedió a la obtención del extracto de los pétalos de las flores de *Delonix regia* (árbol de fuego), por medio del método de maceración durante un periodo de ocho días, seleccionando como solvente etanol 90°, realizándolo de manera que el solvente cubriera la superficie de la muestra, dando como resultado el siguiente extracto (Ver Anexo N° 5)

5.3 PRUEBAS PRESUNTIVAS DE VIRAJE DE COLOR

La intensidad de coloración del extracto de *Delonix regia* (árbol de fuego) frente a Ácido Clorhídrico 0.1N e Hidróxido de Sodio 0.1N varía según el siguiente cuadro:

Cuadro N° 2: Resultados de la variación del color de *Delonix regia* (árbol de fuego), frente a ácido clorhídrico 0.1N e hidróxido de sodio 0.1N:

EXTRACTO	COLOR INICIAL DEL EXTRACTO	VIRAJE DE COLOR EN MEDIO ACIDO HCl (0.1N)	VIRAJE DE COLOR EN MEDIO BASICO NaOH (0.1N)
Maceración con etanol 90°	Ámbar oscuro	Rojo cerezo intenso	Verde musgo intenso

(Ver Anexo N° 5)

Estas pruebas se realizaron para comprobar si existe un cambio químico en el extracto obtenido de los pétalos de las flores de *Delonix regia* (árbol de fuego), dicho cambio se representa por un definido viraje de color.

Obteniéndose como resultado que el extracto etanólico de *Delonix regia* (árbol de fuego) frente a una solución ácida y a una solución básica, presentan diferencias en el viraje de color dando una coloración rojo cerezo en medio ácido (HCl 0.1N) y una coloración tono verde musgo en medio básico (NaOH 0.1N). (Ver Anexo N° 5)

5.4 PRUEBAS FITOQUÍMICAS PARA IDENTIFICAR FLAVONOIDES Y ANTOCIANINAS PRESENTES EN LOS PETALOS DE LAS FLORES DE *Delonix regia* (ARBOL DE FUEGO), OBTENIDO POR EL MÉTODO DEL MACERACION.

Las pruebas fitoquímicas realizadas al extracto etanólico de la especie se hizo con la finalidad de identificar cualitativamente sustancias características presentes en ella que son las responsables de su coloración.

Para llevar a cabo la realización de estos ensayos a partir del extracto etanólico de las flores de *Delonix regia* (árbol de fuego), se hizo uso de diferentes reactivos químicos que comprobaron de forma cualitativa la presencia o ausencia de ciertas sustancias fitoquímicas; de interés para este estudio como lo fueron los Flavonoides y las Antocianinas

Los resultados obtenidos, son los siguientes:

Cuadro N° 3: Resultados de Pruebas Fitoquímicas del Extracto etanólico de los pétalos de *Delonix regia* (árbol de fuego).

SUSTANCIA FITOQUIMICA	PRUEBA	RESULTADO ESPERADO	RESULTADO OBTENIDO
FLAVONOIDES	Shinoda o cianidina	Rojo	Rojo cerezo
	NaOH	Verde	Verde musgo
ANTOCIANINAS	Vapores de amoniacó	Azul o purpura	Purpura oscuro

(Ver Anexo N° 5)

Por medio de los resultados obtenidos en las pruebas fitoquímicas realizadas al extracto etanólico de *Delonix regia* (árbol de fuego), se logró determinar la presencia de Flavonoides y Antocianinas, ya que todas las pruebas para su determinación dieron resultados positivos.

5.5 ELABORACIÓN DE UNA ESCALA DE pH A PARTIR DEL EXTRACTO OBTENIDO.

CONTRUCCION DE LA ESCALA DE pH (1-14)

Una vez observado el viraje y la intensidad de color de la prueba presuntiva se elaboró una escala de pH partiendo del extracto etanólico de *Delonix regia* (árbol de fuego).

La escala de pH se elaboró con el fin de observar la coloración que el extracto de la planta en estudio tiene a diferentes pH, utilizando para ello, soluciones buffer pH de 1 a 14. (Ver Anexo N° 5)

Cuadro N° 4: Variación de color del extracto etanólico de pétalos de flores de *Delonix regia* (árbol de fuego) con soluciones buffer pH 1 - 14.

pH DE LA SOLUCION BUFFER	COLOR DE LA SOLUCION BUFFER	VIRAJE DEL EXTRACTO <i>Delonix regia</i> (Árbol de fuego)
1	Transparente	Ámbar oscuro
2	Transparente	Ámbar pardo oscuro
3	Transparente	Ámbar pardo claro
4	Transparente	Verde amarillo oscuro
5	Transparente	Verde olivo
6	Transparente	Verde olivo
7	Transparente	Verde olivo
8	Transparente	Verde musgo
9	Transparente	Verde musgo
10	Transparente	Verde musgo
11	Transparente	Verde musgo
12	Transparente	Verde musgo
13	Transparente	Verde musgo
14	Transparente	Verde musgo

Como se presenta en el cuadro N° 4, a diferentes valores de pH se distingue una variación en el color del extracto obtenido de los pétalos de las flores de *Delonix regia* (árbol de fuego), la coloración inicial observada cambia a medida aumenta el pH, de ácido a básico; así, en la coloración de valores de pH 1 al 3 se observan tonalidades ámbar-pardas, mientras que del pH 4 en adelante predominan tonalidades verdes según aumenta la basicidad.

Estas variaciones de colores se formaron debido a los diferentes valores de pH de cada solución buffer utilizada, observando el comportamiento del extracto tanto en medio ácido como en básico.

5.6 TITULACIONES ÁCIDO-BASE EN MEDIO ACUOSO UTILIZANDO EL EXTRACTO OBTENIDO COMO INDICADOR

Para poder determinar el punto final y el punto de equivalencia del extracto; se realizaron valoraciones utilizando como indicador el extracto en estudio, y de esta forma poder comprobar si este extracto etanólico obtenido puede ser usado como indicador ácido-base en titulaciones volumétricas en medio acuoso.

5.6.1 Titulaciones Ácido Fuerte (HCl 0.1N) y Base Fuerte NaOH (0.1N) con extracto etanólico de los pétalos de las flores de *Delonix regia* (árbol de fuego) como indicador

Los resultados se proporcionan a continuación en el siguiente cuadro:

Cuadro N°5: Valores de pH en la titulación (HCl 0.1N VS - NaOH 0.1N VS) utilizando el extracto etanólico de los pétalos de las flores de *Delonix regia* (Árbol de fuego) como indicador para elaborar la curva de titulación ácido fuerte– base fuerte.

Volumen (mL) gastado de HCl 0.1N	pH	Color
0.00	12.44	Verde olivo
5.00	12.37	Verde olivo
10.00	12.04	Verde olivo
15.00	10.94	Verde olivo
20.00	8.12	Verde olivo
21.00	7.51	Verde olivo
22.00	7.02	Verde olivo
23.00	6.44	Verde olivo
24.00	5.23	Verde olivo

Cuadro N°5 (Continuación):

25.00	3.08	Ámbar tenue
26.00	2.67	Ámbar tenue
27.00	2.54	Ámbar tenue
28.00	2.39	Ámbar tenue
29.00	2.32	Ámbar tenue
30.00	2.23	Ámbar tenue
35.00	1.96	Ámbar tenue
40.00	1.84	Ámbar tenue

- Determinación del punto final obtenidos en la práctica

Al inicio de la titulación se observó un color verde olivo, el cual cambiaba según se añadía la solución valorante hasta llegar a observar el punto final, donde el cambio de viraje de color fue a ámbar tenue (Ver anexo N° 5), esto se dio a un volumen de 25.00 mL, con un pH promedio de 3.08 (lectura de pH-metro), y con los datos obtenidos se procedió a construir la curva de titulación ácido fuerte - base fuerte.

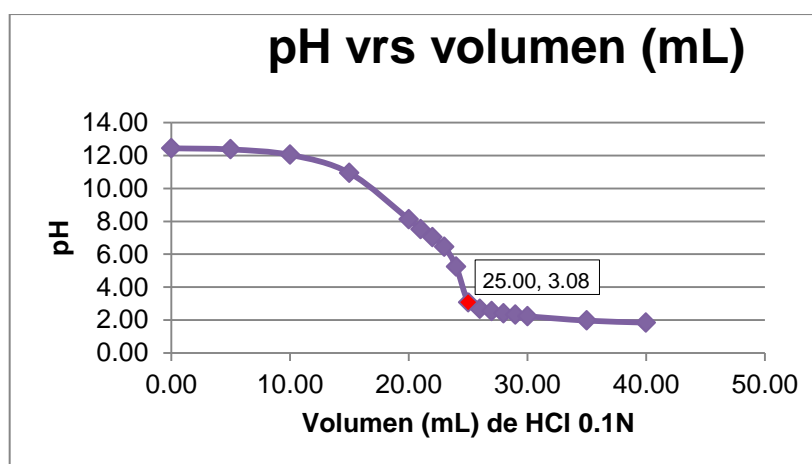


Figura N° 6: Gráfico de pH vs Volumen (mL) de HCl 0.1N utilizando el extracto etanólico de los pétalos de las flores de *Delonix regia* (Árbol de fuego) como indicador. El punto final de la titulación está indicado en color rojo (■).

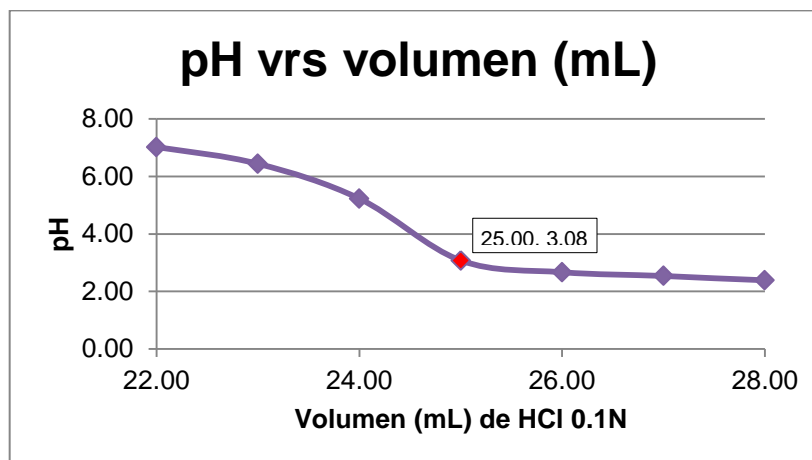


Figura N° 7: Gráfico en una escala más ampliada de pH vs Volumen (mL) de HCl 0.1N utilizando el extracto etanólico de los pétalos de las flores de *Delonix regia* (Árbol de fuego) como indicador. El punto final de la titulación está indicado en color rojo (■).

En la figura N° 6 se representa el volumen del titulante en el eje horizontal y el pH en el eje vertical, también se puede observar el volumen al cual se obtiene el punto final, que se muestra mejor en una escala ampliada en la figura N° 7.

Cuando se agrega poco a poco el ácido a la base, el pH de la solución disminuye con cada adición, la curva de titulación representa la variación del pH de la solución en función del volumen del ácido agregado, se verifica un descenso levemente brusco cerca del punto de equivalencia y en la región de este descenso se produce el punto final que se reconoce visualmente con el cambio de color del indicador en la solución.

Con los datos obtenidos en el cuadro N° 5 se realizaron diferentes cálculos para poder graficar la primera y segunda derivada de los valores de pH con respecto al volumen de ácido clorhídrico añadido gastado respectivamente, lo cual nos ayuda a obtener una mayor exactitud del punto de equivalencia de la valoración.

A continuación se presentan los valores obtenidos para graficar $\Delta\text{pH} / \Delta\text{V}$ y $\Delta^2\text{pH} / \Delta^2\text{V}$ con respecto al Volumen de HCl 0.1N gastado:

Cuadro N° 6: Datos para construir el gráfico de las curvas de titulación de la primera y de la segunda derivada con extracto etanólico de los pétalos de las flores de *Delonix regia* (Árbol de fuego)

Volumen HCl 0.1N	pH	ΔV	ΔpH	$\Delta\text{pH} / \Delta\text{V}$	$\Delta^2\text{pH} / \Delta^2\text{V}$
0.00	12.44	0.00	12.44		
5.00	12.37	5.00	0.07	0.01	
10.00	12.04	5.00	0.33	0.07	0.05
15.00	10.94	5.00	1.10	0.22	0.15
20.00	8.12	5.00	2.82	0.56	0.34
21.00	7.51	1.00	0.61	0.61	0.05
22.00	7.02	1.00	0.49	0.49	-0.12
23.00	6.44	1.00	0.58	0.58	0.09
24.00	5.23	1.00	1.21	1.21	0.63
25.00	3.08	1.00	2.15	2.15	0.94
26.00	2.67	1.00	0.41	0.41	-1.74
27.00	2.54	1.00	0.13	0.13	-0.28
28.00	2.39	1.00	0.15	0.15	0.02
29.00	2.32	1.00	0.07	0.07	-0.08
30.00	2.23	1.00	0.09	0.09	0.02
35.00	1.96	5.00	0.27	0.05	-0.04
40.00	1.84	5.00	0.12	0.02	-0.03

Con los resultados del cuadro N° 6 se grafica la curva de la primera derivada ($\Delta\text{pH} / \Delta\text{V}$), obteniéndose gráficamente un punto final en un volumen de 25.00 mL que es mostrado con una recta tangente de color rojo (figura N° 8)

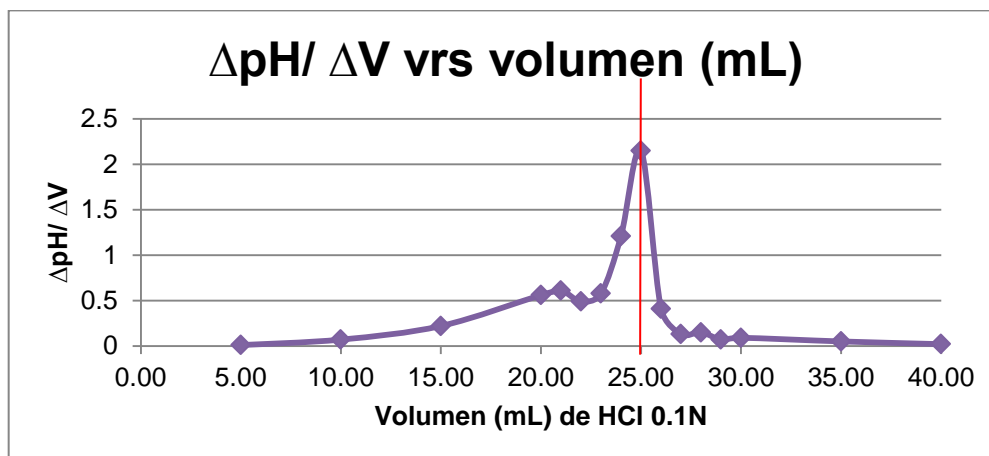


Figura N° 8: Gráfico de la primera derivada ($\Delta\text{pH}/\Delta\text{V}$) vs Volumen (mL) de HCl 0.1N utilizando el extracto etanólico de los pétalos de las flores de *Delonix regia* (Árbol de fuego) como indicador.

Además con los resultados del cuadro N°6 se grafica también la curva de la segunda derivada ($\Delta^2\text{pH}/\Delta^2\text{V}$), obteniéndose un volumen de equivalencia en 25.35 mL, mostrado con una recta tangente de color rojo (figura N°9 y figura N°10)

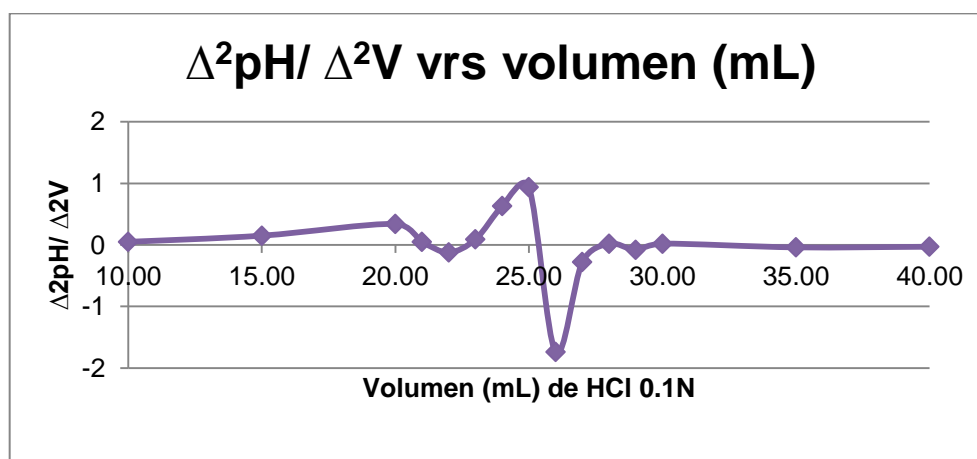


Figura N° 9: Gráfico de la segunda derivada ($\Delta^2\text{pH}/\Delta^2\text{V}$) vs Volumen (mL) de HCl 0.1N utilizando el extracto etanólico de los pétalos de las flores de *Delonix regia* (Árbol de fuego) como indicador.

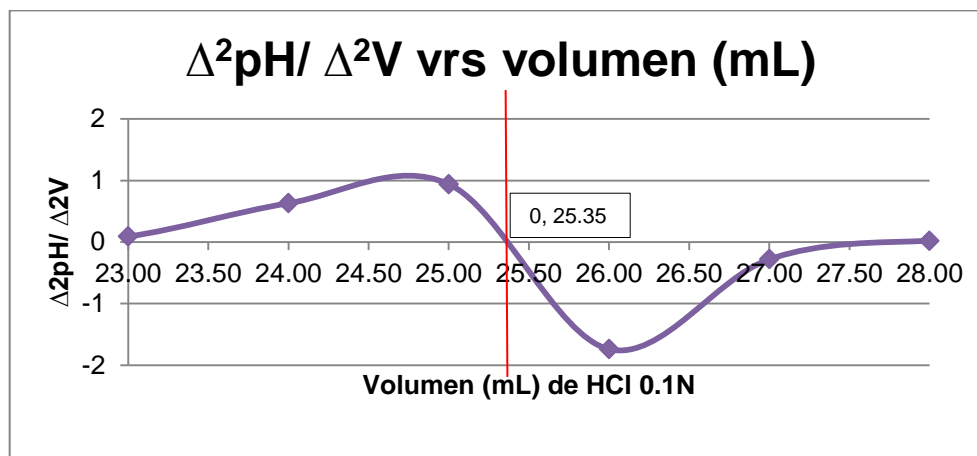


Figura N°10: Gráfico en una escala más ampliada de la segunda derivada ($\Delta^2\text{pH}/\Delta^2V$) vs Volumen (mL) de HCl 0.1N utilizando el extracto etanólico de los pétalos de las flores de *Delonix regia* (Árbol de fuego) como indicador.

En la práctica, el viraje del indicador se observó visualmente a un volumen de 25.00 mL con una lectura de pH de 3.08 (lectura de pH-metro), lo que determina el punto final de la titulación.

Con los datos del cuadro N°5 se logran realizar diferentes cálculos para poder graficar la primera derivada ($\Delta\text{pH}/\Delta V$) observando en la figura N°8 el punto de inflexión en la curva que es el punto que determina el cambio en el punto final y que gráficamente se ve reflejado en un volumen de 25.00 mL.

Por otro lado cuando se grafica la segunda derivada ($\Delta^2\text{pH}/\Delta^2V$) visualizada en la figura N°9; donde se ubica con una mayor precisión por medio de la intersección en el eje cero (mostrado con una recta tangente de color rojo) el volumen de equivalencia y se obtiene que el valor para dicho volumen es de 25.35 mL, que se observa en una escala más ampliada en la figura N°10, y es en este volumen de equivalencia donde la cantidad del valorante que ha sido agregado es estequiométricamente equivalente a las moléculas del analito presente en la muestra.

5.6.2 Titulaciones Ácido Débil (CH_3COOH 0.1N) y Base Fuerte NaOH (0.1N) con extracto etanólico de los pétalos de las flores de *Delonix regia* (árbol de fuego) como indicador

Los resultados se proporcionan a continuación en el siguiente cuadro:

Cuadro N°7: Valores de pH en la titulación (CH_3COOH 0.1N VS - NaOH 0.1N VS) utilizando el extracto etanólico de los pétalos de las flores de *Delonix regia* (Árbol de fuego) como indicador para elaborar la curva de titulación ácido fuerte– base fuerte.

Volumen (mL) gastado de CH_3COOH 0.1N	pH	Color
0.00	12.33	Verde olivo tenue
5.00	12.25	Verde olivo tenue
10.00	11.96	Verde olivo tenue
15.00	10.67	Verde olivo tenue
16.00	10.32	Verde olivo tenue
17.00	9.83	Verde olivo tenue
18.00	8.94	Anaranjado tenue
19.00	7.43	anaranjado tenue
20.00	6.75	anaranjado tenue
21.00	6.32	anaranjado tenue
22.00	6.05	anaranjado tenue
23.00	5.87	anaranjado tenue
24.00	5.72	anaranjado tenue
25.00	5.59	anaranjado tenue
26.00	5.48	anaranjado tenue
27.00	5.38	anaranjado tenue
28.00	5.30	anaranjado tenue
29.00	5.25	anaranjado tenue
30.00	5.19	anaranjado tenue
35.00	4.96	anaranjado tenue
40.00	4.80	anaranjado tenue

- Determinación del punto final

Al inicio de la titulación se observó un color verde olivo suave o tenue, el cual cambiaba según se añadía la solución valorante hasta llegar a observar el punto final, donde el cambio de viraje de color fue a anaranjado tenue (Ver anexo N° 5), esto se dio a un volumen de 18.00 mL, con un pH promedio de 8.94 (lectura de pH-metro), y con los datos obtenidos se procedió a construir la curva de titulación ácido débil - base fuerte.

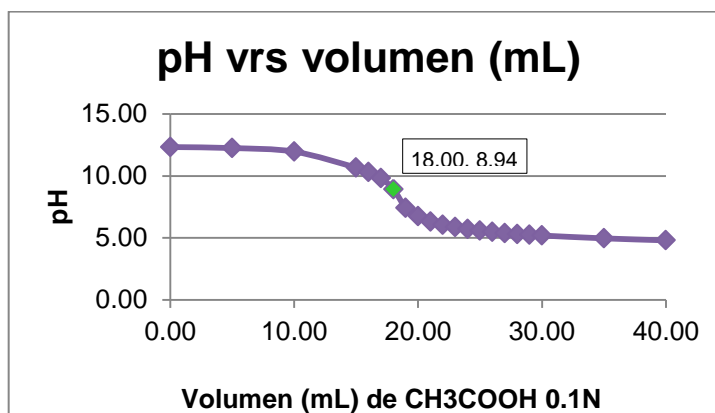


Figura N° 11: Gráfico de pH vs Volumen (mL) de CH₃COOH 0.1N utilizando el extracto etanólico de los pétalos de las flores de *Delonix regia* (Árbol de fuego) como indicador. El punto final de la titulación está indicado en color verde (■).

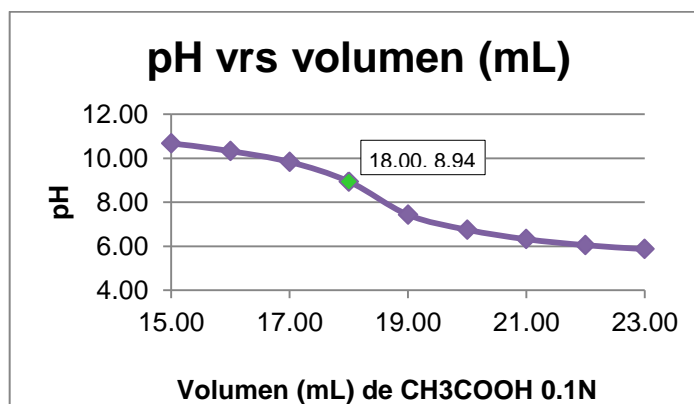


Figura N°12: Gráfico en una escala más ampliada de pH vs Volumen (mL) de CH₃COOH 0.1N utilizando el extracto etanólico de los pétalos de las flores de *Delonix regia* (Árbol de fuego) como indicador. El punto final de la titulación está indicado en color verde (■).

En la figura N°11 se representa el volumen del titulante en el eje horizontal y el pH en el eje vertical, también se puede observar el volumen al cual se obtiene el punto final, que se muestra mejor en una escala ampliada en la figura N° 12.

Cuando se agrega poco a poco el ácido a la base, el pH de la solución se disminuye con cada adición, la curva de titulación representa la variación del pH de la solución en función del volumen del ácido agregado, se verifica un descenso levemente brusco cerca del punto de equivalencia y en la región de este descenso se produce el punto final que se reconoce visualmente con el cambio de color del indicador en la solución.

Con los datos obtenidos en el cuadro N°7 se realizaron diferentes cálculos para poder graficar la primera y segunda derivada del cambio de pH con respecto al volumen de ácido acético añadido gastado respectivamente, lo cual nos ayuda a obtener con mayor exactitud en la determinación el punto de equivalencia de la valoración.

A continuación se presentan los valores obtenidos para graficar $\Delta\text{pH} / \Delta\text{V}$ y $\Delta^2\text{pH} / \Delta^2\text{V}$ con respecto al Volumen de CH_3COOH 0.1N gastado:

Cuadro N° 8: Datos para construir el gráfico de las curvas de titulación y de la segunda derivada con extracto etanólico de los pétalos de las flores de *Delonix regia* (Árbol de fuego)

Volumen CH_3COOH 0.1N	pH	ΔV	ΔpH	$\Delta\text{pH} / \Delta\text{V}$	$\Delta^2\text{pH} / \Delta^2\text{V}$
0.00	12.33	0.00	12.33	--	--
5.00	12.25	5.00	0.08	0.02	--
10.00	11.96	5.00	0.29	0.06	0.04
15.00	10.67	5.00	0.29	0.26	0.20

Cuadro N°8 (Continuación):

16.00	10.32	1.00	0.35	0.35	0.09
17.00	9.83	1.00	0.49	0.49	0.14
18.00	8.94	1.00	0.89	0.89	0.40
19.00	7.43	1.00	1.51	1.51	0.62
20.00	6.75	1.00	0.68	0.68	-0.83
21.00	6.32	1.00	0.43	0.43	-0.25
22.00	6.05	1.00	0.27	0.27	-0.16
23.00	5.87	1.00	0.18	0.18	-0.09
24.00	5.72	1.00	0.15	0.15	-0.03
25.00	5.59	1.00	0.13	0.13	-0.02
26.00	5.48	1.00	0.11	0.11	-0.02
27.00	5.38	1.00	0.10	0.10	-0.01
28.00	5.30	1.00	0.08	0.08	-0.02
29.00	5.25	1.00	0.05	0.05	-0.03
30.00	5.19	1.00	0.06	0.06	0.01
35.00	4.96	5.00	0.23	0.05	-0.01
40.00	4.80	5.00	0.16	0.03	-0.01

Con los resultados del cuadro N° 8 se grafica la curva de la primera derivada ($\Delta\text{pH}/ \Delta\text{V}$), obteniéndose gráficamente un punto final en un volumen de 18.85 mL que es mostrado con una recta tangente de color verde (Figura N° 13)

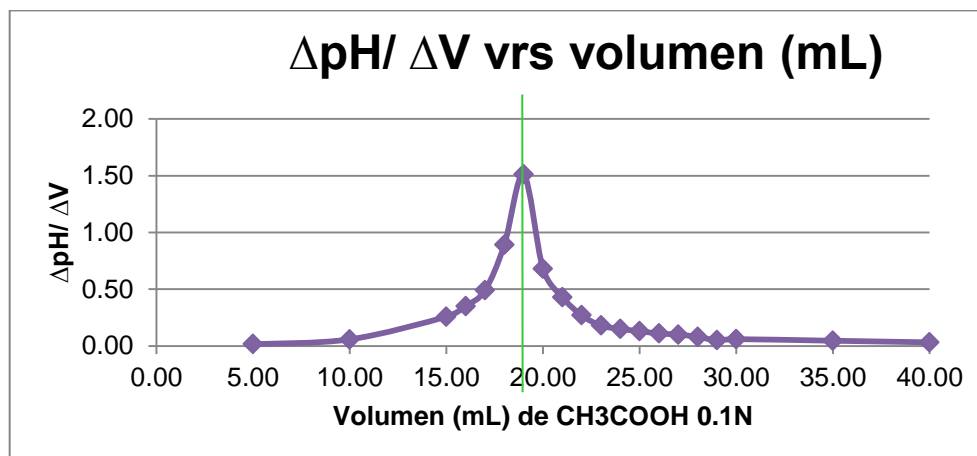


Figura N° 13: Gráfico de la primera derivada ($\Delta\text{pH}/\Delta\text{V}$) vs Volumen (mL) de CH_3COOH 0.1N utilizando el extracto etanólico de los pétalos de las flores de *Delonix regia* (Árbol de fuego) como indicador.

Además con los resultados del cuadro N°8 se grafica también la curva de la segunda derivada ($\Delta^2\text{pH}/\Delta^2\text{V}$), obteniéndose un volumen de equivalencia en 19.40 mL, mostrado con una recta tangente de color verde (figura N° 14 y figura N° 15)

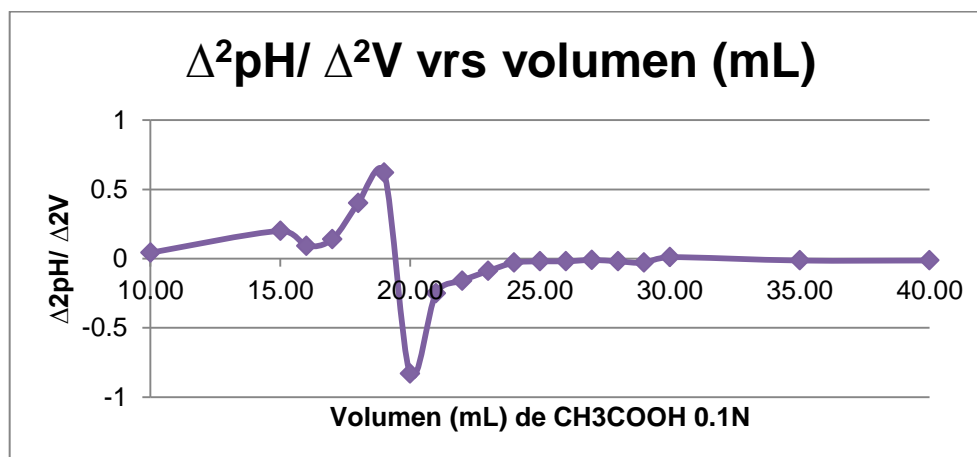


Figura N° 14: Gráfico de la segunda derivada ($\Delta^2\text{pH}/\Delta^2\text{V}$) vs Volumen (mL) de CH_3COOH 0.1N utilizando el extracto etanólico de los pétalos de las flores de *Delonix regia* (Árbol de fuego) como indicador.

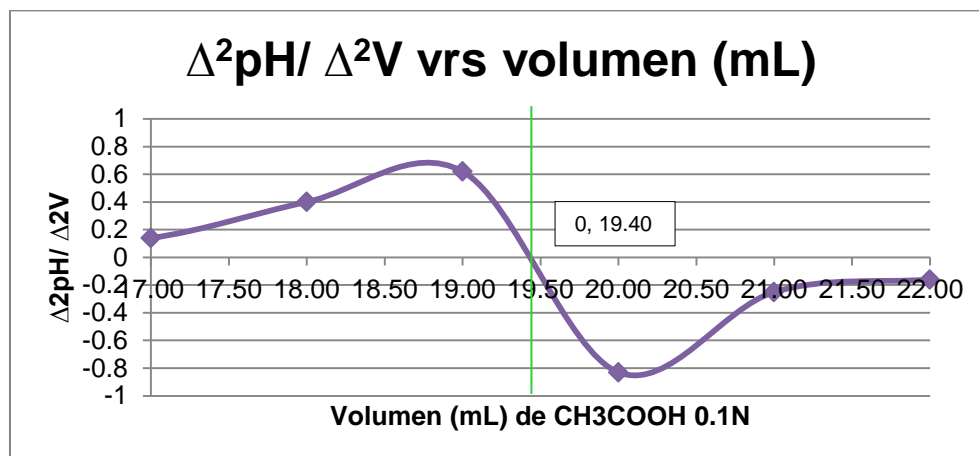


Figura N°15: Gráfico en una escala más ampliada de la segunda derivada ($\Delta^2\text{pH} / \Delta^2V$) vrs Volumen (mL) de CH_3COOH 0.1N utilizando el extracto etanólico de los pétalos de las flores de *Delonix regia* (Árbol de fuego) como indicador.

En la práctica, el viraje del indicador se observó visualmente a un volumen de 18.00 mL con una lectura de pH de 8.94 (lectura de pH-metro), lo que determina el punto final de la titulación.

Con los datos del cuadro N°8 se logran realizar diferentes cálculos para poder graficar la primera derivada ($\Delta\text{pH} / \Delta V$) observando en la figura N°13 el punto de inflexión en la curva que es el punto que determina el cambio en el punto final y que gráficamente se ve reflejado en un volumen de 18.85 mL.

Por otro lado se grafica la segunda derivada ($\Delta^2\text{pH} / \Delta^2V$) visualizada en la figura N° 14, donde se ubica con una mayor precisión por medio de la intersección en el eje cero (mostrado con una recta tangente de color verde) el volumen de equivalencia y se obtiene que el valor para dicho volumen es de 19.40mL, que se observa en una escala más ampliada en la figura N°15, y es en este volumen de equivalencia donde la cantidad de valorante que ha sido agregado es estequiométricamente equivalente a las moléculas del analito presente en la muestra.

CAPITULO VI
CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

1. Empleando la técnica de extracción por el método de maceración con etanol se extrajeron los metabolitos responsables del color presentes en la muestra sin degradarse, por lo que este método ha sido una buena elección y de bajo costo.
2. El extracto natural obtenido de los pétalos de *las flores de Delonix regia* (Árbol de fuego), puede ser utilizado como indicador ácido-base en medio acuoso ya que tuvo un cambio químico evidenciado por un viraje de color en las pruebas presuntivas con solución ácida (HCl 0.1N) y con solución básica (NaOH 0.1N).
3. Mediante algunas pruebas fitoquímicas generales para la identificación de los metabolitos responsables del color presentes en la muestra se identificó cualitativamente la presencia de flavonoides por medio de la prueba de Shinoda y la prueba con álcali; así también la presencia de antocianinas por medio de la prueba con vapores de amoníaco, ya que los resultados obtenidos fueron positivos en cada una de ellas.
4. Al observar el comportamiento del extracto obtenido en una escala de pH de soluciones buffer en valores de pH de 1 a 14, se define que el rango de viraje de color del extracto de las flores de *Delonix regia*, obtenido en esta investigación fue de 3 a 4, por lo que puede utilizarse en este rango de pH.
5. La primera derivada demostró gráficamente con una mayor precisión el volumen requerido para establecer el punto final en la valoración ácido fuerte-base fuerte, y ácido débil-base fuerte.

6. La segunda derivada demostró gráficamente con una mayor precisión el volumen requerido para establecer el punto de equivalencia en la valoración ácido fuerte-base fuerte y ácido débil-base fuerte.
7. El extracto etanólico obtenido en esta investigación, de las flores de *Delonix regia* puede sustituir indicadores sintéticos que trabajen en un rango de viraje de color de 3.08 ± 0.02 ; ya que con los resultados obtenidos gráficamente de la segunda derivada con respecto al volumen en la valoración de ácido fuerte-base fuerte; se obtiene un volumen para el punto de equivalencia de 25.35 mL y este se demuestra con los resultados de la primera derivada que nos indica un volumen de punto final en 25.00 mL con un pH de 3.08 respectivamente.
8. El extracto etanólico obtenido de los pétalos de las flores de *Delonix regia* (Árbol de fuego) no fué estable después de almacenarse 3 meses a temperatura ambiente.

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES

7.0 RECOMENDACIONES

1. En futuras investigaciones, se aconseja que se utilicen otro tipo de solventes de extracción para comparar los resultados.
2. En futuros trabajos de graduación realizar investigaciones para el aislamiento de los metabolitos presentes y así lograr dilucidar la estructura química responsable del cambio de color.
3. A los docentes, que laboran en educación básica o media, utilizar el extracto obtenido de los pétalos de las flores de *Delonix regia* (Árbol de fuego), como indicador ácido o base y de esta manera fomentar una alternativa viable para disminuir el daño al medio ambiente.
4. Realizar al extracto obtenido, estudios de estabilidad física, y así poder establecer condiciones adecuadas para su conservación y de esta manera obtener una mejor vida útil, además de una mayor precisión en los datos obtenidos de las diversas pruebas en la que serán utilizados.
5. A las autoridades de la Facultad de Química y Farmacia, gestionar a través de la Universidad de El Salvador, proyectos de investigación con otras instituciones, para la adquisición de un equipo liofilizador y así obtener los indicadores en forma sólida para una mejor estabilidad física.
6. Al Ministerio de Educación, promover a nivel educativo el uso de indicadores naturales como indicadores ácido-base, para que de esta manera se aprovechen los recursos naturales existentes en el país, con una buena rentabilidad por su bajo costo y su fácil obtención.

BIBLIOGRAFIA

1. Alas Juárez, E. M; Salazar Mejía, J. M. 2010. OBTENCION DE INDICADORES NATURALES ACIDO-BASE PARA MEDIO ACUOSO A PARTIR DEL FRUTO DE LA *Fragaria vesca* (FRESA), DE LAS CASCARAS DE *Vitis vinífera* (UVA ROJA) Y DE LA *Prunus domestica* (CIRUELA NEGRA). Trabajo de graduación para optar al grado de Licenciatura en Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, San Salvador, El Salvador, pág. 60 y 64.
2. Bisby F. Phytochemical Dictionary of the Leguminosae. [Libro en Internet]. Vol1. Plants and their Constituents. 1ª ed. Gran Bretaña, Editorial Chapman & Hall; 1994. p. 255. [acceso 10 de septiembre 2014].
3. Canales Margarita, Meraz Samuel, Peñalosa Ignacio. Fisicoquímica: volumen I Teoría. [Libro en internet]. México: UNAM; 1999. p. 166. [acceso 25 de enero de 2014].
4. Comisión permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM). 10ª ed Volumen 1. México 2011
5. Domínguez, X. 1973. Métodos de Investigación Fitoquímica. Primera edición. México. Editorial Limusa.
6. Fresno, A. M.V. del., 1999. Farmacognosia General. Editorial Síntesis.
7. Harris Daniel C. Análisis Químico Cuantitativo. 6ª ed. original. España: Editorial reverté; 2007. p. 128-130, 239-240

8. Herrera Cornejo, J. R.; López Maravilla, O. A. 2007. PROPUESTA DE UN INDICADOR VEGETAL ACIDO-BASE A PARTIR DE LAS FLORES DE: *Tecoma stans* (SAN ANDRÉS) y *Jacaranda mimosifolia* (JACARANDA). Trabajo de graduación para optar al grado de Licenciatura en Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, San Salvador, El Salvador. Pág. 44 y 45 ; anexo 5 y 6

9. LEY DE MEDIO AMBIENTE. DIARIO OFICIAL República de El Salvador, América Central. Decreto N° 233, Diario oficial N° 79, Tomo N°. 339, San Salvador Fecha Emisión: 02/03/1998. Fecha Publicación: 04/05/1998. Fecha de Última Modificación 11/10/2012 [acceso 25 de enero de 2014]
Disponible en:
<http://www.asamblea.gob.sv/eparlamento/indice-legislativo/buscador-de-documentos-legislativos/ley-del-medio-ambiente>

10. Little Elbert L., Wadsworth Frank H., Marrero José. Árboles comunes de Puerto Rico y las Islas Vírgenes. [Libro en internet]. 2ª ed. Puerto Rico: Editorial de la Universidad de Puerto Rico; 2001. p. 192-194. [acceso 24 enero de 2014].

11. Morales Rodas, C. L.; Pérez Umaña, E. R.; Vega Claros, L. M. 2005. OBTENCION DE INDICADORES NATURALES ACIDO-BASE A PARTIR DE PETALOS DE CUATRO ESPECIES DE FLORES. Trabajo de graduación Licenciatura en Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, El Salvador. Pág. 146 y 147; anexo 7.

12. Ocampo C. Rogelio, Ríos Luz Amalia, Betancur Luz Adriana, Ocampo S. Diana Marcela. Curso práctico de química orgánica. Enfocado a biología y alimentos. [Libro en Internet] 1ª ed. Colombia: Manizales, Editorial Universidad de Caldas; 2008. p. 56-59. [acceso 25 enero de 2014].
13. REGLAMENTO ESPECIAL EN MATERIA DE SUSTANCIAS, RESIDUOS Y DESECHOS PELIGROSOS. Estado: Vigente. Naturaleza: Decreto Ejecutivo N°: 41 Fecha: 31/5/2000. Diario oficial: 101. Tomo: 347. Publicación DO: 01/06/2000. [acceso 25 enero de 2014].
Disponible en:
http://www.vertic.org/media/National%20Legislation/El_Salvador/SV_Reglamento_de_Productos_Peligrosos.pdf
14. Sánchez Pérez Pedro, Orellana Gallego Rosa, Carnejo Crespo María del R., Cámara Córdova Julio, Beauregard Solís Graciela. Colección Botánica del INIFAT: Algunas especies representativas. [Libro en internet]. 1ª ed. México: Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; 2004. p. 15. [acceso 24 enero de 2014].
15. Sing de Ugaz, Olga Lock; Colorantes Naturales. [Libro en Internet] Lima: PUCP-Fondo editorial; 1997. p. 95 y 97. [acceso 25 enero de 2014]. Capítulo IV: Antocianinas.
16. Skoog Douglas A., West Donald M. Fundamentos de Química analítica. 8ª ed. México: International Thomson Editores; 2005. p. 341-344, 354-355, 374-378, 383

17. Sogorb Sánchez Miguel Angel, Vilanova Gisbert Eugenio. Técnicas analíticas de contaminantes químicos. [Libro en Internet]. España: Ediciones Díaz de Santos S.A.; 2004. p. 46-48. [acceso 25 enero de 2014]
18. Solá de los Santos Jaime, Hernández Pérez José Luis, Fernández Cruz Ricardo. Grupo Heurema. [Página principal en Internet]. [acceso 25 enero 2014]. Indicadores químicos ácido-base I
Disponible en: <http://www.heurema.com/QG7.htm>
19. Solá de los Santos Jaime, Hernández Pérez José Luis, Fernández Cruz Ricardo. Grupo Heurema. [Página principal en Internet]. [acceso 25 enero de 2014]. Indicadores químicos ácido-base II
Disponible en: <http://www.heurema.com/QG8.htm>
20. The United States Pharmacopeia Convention. In The United States Pharmacopeia. Thirtyfive Revision. NF 25. Vol. I, USA.
21. Toribio Noris, Correa Mireya, Morales Juan Francisco. Semillas y frutos de uso artesanal en Panamá. [Libro en internet]. 1ª ed. Costa Rica: Editorial INBio; 2009. p. 54-55. [acceso 24 enero de 2014].
22. UES. (Universidad de El Salvador). Facultad de Química y Farmacia. 2013. Manual de Laboratorio de Farmacognosia.
23. <http://es.scribd.com/doc/62284899/Requisitos-para-los-analisis-volumetricos> [acceso 25 enero de 2014].
24. http://es.wikipedia.org/wiki/Delonix_regia [acceso 24 enero de 2014].

25. <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&i d=7829> [acceso 24 enero de 2014].
26. http://www.murciencia.com/UPLOAD/COMUNICACIONES/colores_mutantes .pdf [acceso 25 enero de 2014].
27. <http://www.proyectopv.org/1-verdad/contaminacion.htm> [acceso 25 enero de 2014].
28. http://www.semicol.co/semillas/forestales-y-ornamentales/acacia-roja.- escarificada/flypage_new.tpl.html [acceso 24 enero de 2014].
29. <http://www.slideshare.net/bessieoliva/volumetra> [acceso 25 enero de 2014].
30. <http://www.tropicos.org/NamePage.aspx?nameid=13047083&langid=66> [acceso 25 enero de 2014].
31. <http://www.tropicos.org/Name/18404227> [acceso 25 enero de 2014].

ANEXOS

ANEXO Nº 1
CONSTANCIA DE IDENTIFICACIÓN BOTANICA DE LA PLANTA EN
ESTUDIO



Universidad de El Salvador
Facultad de Ciencias Naturales y Matemática
Escuela de Biología

Ciudad Universitaria, 09 de diciembre de 2014

A quien Interese:

Por este medio, hago constar que la Br. Alicia Edelmira Torres, se presentó en las instalaciones del Herbario de la Universidad de El Salvador (ITIC), en fecha 09 de diciembre de 2014, para que se le identificara taxonómicamente una muestra botánica conocida como "flor de fuego", "malinche", colectada por la bachiller mencionada, en los alrededores de la Facultad de Ciencias Económicas de Universidad de El Salvador, el 26 de abril de 2014. La misma es de amplia distribución en el territorio nacional.

La muestra se identifica como: *Delonix regia* (Bojer ex Hook.) Raf., Fl. Tellur. 2: 92. 1837; *Poinciana regia* Bojer ex Hook. Sinónimo: *Poinciana regia* Bojer, de la familia Fabaceae, subfamilia Caesalpinaceae.

Para los usos que estime conveniente, extendiendo la presente constancia.

MSc. Nohemy Elizabeth Ventura Centeno
Profesora Investigadora
Curadora del Herbario de la Universidad de El Salvador (ITIC)

ANEXO N° 2
MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS

Materiales:

- Agitadores de vidrio
- Aro metálico
- Balón volumétrico con capacidad de 1000.0 mL, 500.0 mL, 100.0 mL y 50.0 mL
- Beaker con capacidad de 1000 mL, 400 mL, 250 mL, 150 mL, 100 mL, 50 mL y 10 mL
- Bureta con capacidad de 50.0 mL
- Embudo de vidrio
- Erlenmeyer de 250 mL y 125 mL
- Espátula de acero inoxidable
- Frasco lavador
- Frascos gotero de vidrio color ámbar con capacidad para 30 mL
- Gradillas para tubos de ensayo
- Goteros
- Papel filtro
- Papel toalla
- Pinzas de extensión
- Pinzas de sostén
- Pinzas para bureta
- Pipetas volumétricas con capacidad de 25.0 mL, 10.0 mL y 1.0 mL
- Probeta con capacidad de 100 mL, 25 mL y 10 mL
- Soporte metálico
- Toallas de tela
- Trípode
- Tubos de ensayo

Equipo:

- Agitadores magnéticos
- Balanza analítica
- Balanza granataria
- Balanza semianalítica
- Hot plate
- pH-metro
- Cámara de extracción de gases
- Lentes de seguridad
- Mascarilla para gases

Reactivos:

- Ácido acético glacial_(L) 99.9%
- Ácido clorhídrico concentrado_(L) 37%
- Biftalato de potasio $[\text{KHC}_6\text{H}_4(\text{COO})_2]_{(S)}$
- Carbonato de Sodio $(\text{Na}_2\text{CO}_3)_{(S)}$
- Fosfato de potasio monobásico_(S)
- Ácido bórico_(S)
- Cloruro de potasio_(S)
- Etanol al 90°
- Fenolftaleína TS
- Hidróxido de sodio $(\text{NaOH})_{(S)}$
- Vapores de Amoniac
- Láminas de magnesio_(S)
- Soluciones buffer pH 1-14 (según USP 35)

ANEXO N° 3
PREPARACION DE REACTIVOS

Solución de Hidróxido de sodio (NaOH) 0.1N (4, 20)

Pesar en un beaker de plástico de 500 mL, 4g de Hidróxido de Sodio_(s) utilizando una balanza semi-analítica y disolverlo en aproximadamente 250 mL de agua libre de CO₂, agitar hasta completa disolución. La solución anterior transferirla a un frasco volumétrico de 1000.0 mL y diluir con agua libre de CO₂ a temperatura ambiente hasta llevar a volumen. Finalmente homogenizar y envasar en frasco de plástico.

Estandarización de solución de hidróxido de sodio 0.1N (4, 20)

1. Llenar una bureta de 50.0 mL con solución de Hidróxido de Sodio 0.1N, previamente ambientada.
2. Adicionar con pipeta volumétrica 10.0 mL. de Biftalato de potasio 0.1N a un erlenmeyer de 125 mL.
3. Agregar 2 gotas de solución de fenolftaleína y agitar hasta homogenizar.
4. Titular la muestra con hidróxido de sodio 0.1N hasta que el color cambie de incoloro a rosado, agitando constantemente
5. Tomar lectura de volumen gastado de Hidróxido de Sodio 0.1N.
6. Realizar cuatro valoraciones más.

Solución de ácido clorhídrico (HCl) 0.1N (4, 20)

En un frasco volumétrico de 1000.0 mL que contenga aproximadamente 500mL de agua destilada, adicionar con una pipeta Morh 8.3 mL ácido clorhídrico concentrado, agitar, luego diluir hasta llegar a volumen con agua destilada. Homogenizar, envasar en frasco de vidrio y rotular.

Estandarización de solución de ácido clorhídrico 0.1N (4)

1. Llenar una bureta de 50.0 mL con solución de ácido clorhídrico 0.1N, previamente ambientada.

2. Adicionar con pipeta volumétrica 10.0 mL de Carbonato de sodio 0.1N a un erlenmeyer de 125 mL.
3. Agregar 2 gotas de solución de Fenolftaleína y agitar para homogenizar.
4. Titular el Carbonato de sodio 0.1N con ácido clorhídrico 0.1N poco a poco con agitación constante hasta llegar al punto final, cuando se da un viraje de color rosado intenso a incoloro.
5. Tomar lectura de volumen gastado de ácido clorhídrico 0.1N.
6. Realizar cuatro valoraciones más.

Solución de ácido acético (CH₃COOH) 0.1N (4, 20)

En un frasco volumétrico de 1000.0 mL que contenga aproximadamente 500 mL de agua destilada, adicionar con una pipeta volumétrica 6.0 mL de ácido acético glacial, agitar, luego diluir hasta llegar a volumen con agua destilada a temperatura ambiente. Homogenizar, envasar en frasco de vidrio y rotular.

Estandarización de solución de ácido acético 0.1 N (4, 20)

1. Llenar una bureta de 50.0 mL con solución de ácido acético 0.1N, previamente ambientada.
2. Adicionar con pipeta volumétrica 10.0mL de Hidróxido de sodio 0.1N a un erlenmeyer de 125 mL.
3. Agregar 2 gotas de solución de fenolftaleína y agitar hasta homogenizar.
4. Titular el Hidróxido de sodio 0.1N, agregando el ácido acético poco a poco con agitación constante hasta punto final, cuando se da un viraje de color de rosado intenso a incoloro.
5. Tomar lectura de volumen gastado de ácido acético 0.1N.
6. Realizar cuatro valoraciones más.

Carbonato de sodio (Na_2CO_3) 0.1N ⁽⁴⁾

Pesar 0.53 g de carbonato de sodio^(s) en balanza analítica, disolverlo en 25 mL de agua, transferir la solución a un balón volumétrico de 50.0 mL, llevar a volumen y rotular.

Biftalato de potasio [$\text{KHC}_6\text{H}_4(\text{COO})_2$] 0.1N ⁽⁴⁾

Pesar en un Beaker limpio y seco la cantidad de 1.012 g de Biftalato de potasio (previamente secado a 110° por 1h). Adicionar más o menos 25 mL de agua destilada libre de CO_2 , agitar para disolver, si no se disuelve adicionar otros 10 mL de agua. Pasar la solución a un frasco volumétrico de 50.0 mL y aforar. Finalmente rotular.

Fenolftaleína SR ⁽⁴⁾

Pesar en un beaker limpio y seco, 1 g de fenolftaleína, en balanza granataria, disolver adicionando 100 mL de etanol.

Ácido Clorhídrico 0.2M ^(4, 20)

En un frasco volumétrico de 100.0 mL que contenga aproximadamente 50 mL de agua destilada, adicionar con una pipeta Morh 1.6 mL de ácido clorhídrico concentrado, agitar, luego diluir hasta llegar a volumen con agua destilada. Homogenizar, envasar en frasco de vidrio y rotular.

Hidróxido de Sodio 0,2M ^(4, 20)

Pesar en un beaker de plástico de 50 mL, 0.8 g de Hidróxido de Sodio^(s) utilizando una balanza analítica y disolverlo en aproximadamente 30mL de agua libre de CO_2 , agitar hasta completa disolución. La solución anterior transferirla a un frasco volumétrico de 100.0 mL y diluir con agua libre de CO_2 a temperatura ambiente hasta llevar a volumen. Finalmente homogenizar y envasar en frasco de plástico.

Biftalato de Potasio 0.2M ⁽²⁰⁾

Disolver 4,085 g de biftalato de potasio [$\text{KHC}_6\text{H}_4(\text{COO})_2$] en agua y diluir con agua hasta 100.0mL.

Fosfato de Potasio Monobásico 0,2M ⁽²⁰⁾

Disolver 2,722g de fosfato monobásico de potasio [KH_2PO_4] en agua destilada y diluir con agua hasta 100.0mL.

Ácido Bórico 0,2M ⁽²⁰⁾

Disolver 1,237g de ácido bórico (H_3BO_3) en agua destilada y diluir con agua hasta 100.0mL.

Cloruro de Potasio 0,2M ⁽²⁰⁾

Disolver 1,491g de cloruro de potasio (KCl) en agua destilada y diluir con agua hasta 100.0mL.

Solución amortiguadora pH 1(anexo N° 4) ⁽²⁰⁾

En un balón volumétrico de 50.0 mL añadir 12.5 mL de Cloruro de potasio 0.2M y 21.25 mL de HCl 0.2M, finalmente aforar con agua destilada, homogenizar y rotular.

Solución amortiguadora pH 2 (anexo N° 4) ⁽²⁰⁾

En un balón volumétrico de 50.0 mL añadir 12.5 mL de Cloruro de potasio 0.2M y 3.25 mL de HCl 0.2M, finalmente aforar con agua destilada, homogenizar y rotular.

Solución amortiguadora pH 3 (anexo N° 4) ⁽²⁰⁾

En un balón volumétrico de 50.0 mL añadir 12.5 mL de Biftalato de potasio 0.2M y 5.57 mL de HCl 0.2M, finalmente aforar con agua destilada, homogenizar y rotular.

Solución amortiguadora pH 4(anexo N° 4) ⁽²⁰⁾

En un balón volumétrico de 50.0 mL añadir 12.5 mL de Biftalato de potasio 0.2M y 0.025 mL de HCl 0.2M, finalmente aforar con agua destilada, homogenizar y rotular.

Solución amortiguadora pH 5 (anexo N°4) ⁽²⁰⁾

En un balón volumétrico de 50.0 mL añadir 12.5 mL de Biftalato de potasio 0.2M y 5.65 mL de NaOH 0.2M, finalmente aforar con agua destilada, homogenizar y rotular.

Solución amortiguadora pH 6 (anexo N° 4) ⁽²⁰⁾

En un balón volumétrico de 50.0 mL añadir 12.5 mL de Fosfato de potasio monobásico 0.2M y 1.4 mL de NaOH 0.2M, finalmente aforar con agua destilada, homogenizar y rotular.

Solución amortiguadora pH 7 (anexo N° 4) ⁽²⁰⁾

En un balón volumétrico de 50.0 mL añadir 12.5 mL de Fosfato de potasio monobásico 0.2M y 7.27 mL de NaOH 0.2M, finalmente aforar con agua destilada, homogenizar y rotular.

Solución amortiguadora pH 8 (anexo N° 4) ⁽²⁰⁾

En un balón volumétrico de 50.0 mL añadir 12.5 mL de Ácido bórico 0.2M y 0.97 mL de NaOH 0.2M, finalmente aforar con agua destilada, homogenizar y rotular.

Solución amortiguadora pH 9 (anexo N° 4) ⁽²⁰⁾

En un balón volumétrico de 50.0 mL añadir 12.5 mL de Ácido bórico 0.2M y 5.2 mL de NaOH 0.2M, finalmente aforar con agua destilada, homogenizar y rotular.

Solución amortiguadora pH 10 (anexo N° 4) ⁽²⁰⁾

En un balón volumétrico de 50.0 mL añadir 12.5 mL de Ácido bórico 0.2M y 10.92 mL de NaOH 0.2M, finalmente aforar con agua destilada, homogenizar y rotular.

Solución amortiguadora pH 11 (anexo N° 4) ⁽²⁰⁾

En un balón volumétrico de 50.0 mL añadir 12.5 mL de Ácido bórico 0.2M y 12.01 mL de NaOH 0.2M, finalmente aforar con agua destilada, homogenizar y rotular.

Solución amortiguadora pH 12 (anexo N° 4) ⁽²⁰⁾

En un balón volumétrico de 50.0 mL añadir 12.5 mL de Ácido bórico 0.2M y 13.10 mL de NaOH 0.2M, finalmente aforar con agua destilada, homogenizar y rotular.

Solución amortiguadora pH 13 (anexo N° 4) ⁽²⁰⁾

En un balón volumétrico de 50.0 mL añadir 12.5 mL de Ácido bórico 0.2M y 14.20 mL de NaOH 0.2M, finalmente aforar con agua destilada, homogenizar y rotular.

Solución amortiguadora pH 14 (anexo N° 4) ⁽²⁰⁾

En un balón volumétrico de 50.0 mL añadir 12.5 mL de Ácido bórico 0.2M y 15.20 mL de NaOH 0.2M, finalmente aforar con agua destilada, homogenizar y rotular.

ANEXO N° 4
PREPARACION DE SOLUCIONES AMORTIGUADORAS
SEGÚN USP 35

Cuadro N°9 Preparación de Soluciones Amortiguadoras según USP 35 ⁽²⁰⁾

Composición de Soluciones Amortiguadoras Estándar											
Solución Amortiguadora de Ácido Clorhídrico											
Colocar 50 mL de la solución de cloruro de potasio en un matraz de 200mL, agregar el volumen especificado de la solución de ácido clorhídrico, después agregar agua a volumen											
pH	1,2	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7	1,8	1,9	2,0	2,1	2,2
HCl 0.2M, mL	85,0	67,2	53,2	41,4	32,4	26,0	20,4	16,2	13,0	10,2	7,8

Solución Amortiguadora de Ácido de Ftalato											
Colocar 50 mL de la solución de biftalato de potasio en un matraz de 200mL, agregar el volumen especificado de la solución de ácido clorhídrico, después agregar agua a volumen											
pH		2,2	2,4	2,6	2,8	3,0	3,2	3,4	3,6	3,8	4,0
HCl 0.2M, mL		49,5	42,2	35,4	28,9	22,3	15,7	10,4	6,3	2,9	0,1

Solución Amortiguadora de Neutralizada de Ftalato											
Colocar 50 mL de la solución de biftalato de potasio en un matraz de 200mL, agregar el volumen especificado de la solución de hidróxido de sodio, después agregar agua a volumen											
pH		4,2	4,4	4,6	4,8	5,0	5,2	4,4	5,6	5,8	
NaOH 0.2M, mL		3,0	6,6	11,1	16,5	22,6	28,8	34,1	38,8	42,3	

Solución Amortiguadora de Fosfato												
Colocar 50 mL de la solución de fosfato monobásico de potasio en un matraz de 200mL, agregar el volumen especificado de la solución de hidróxido de sodio, después agregar agua a volumen												
pH	5,8	6,0	6,2	6,4	6,6	6,8	7,0	7,2	7,4	7,6	7,8	8,0
NaOH 0.2M, mL	3,6	5,6	8,1	11,6	16,4	22,4	29,1	34,7	39,1	42,4	44,5	46,1

Solución Amortiguadora Alcalina de Borato											
Colocar 50 mL de la solución de ácido bórico en un matraz de 200mL, agregar el volumen especificado de la solución de hidróxido de sodio, después agregar agua a volumen											
pH	8,0	8,2	8,4	8,6	8,8	9,0	9,2	9,4	9,6	9,8	10,0
NaOH 0.2M, mL	3,9	6,0	8,6	11,8	15,8	20,8	26,4	32,1	36,9	40,6	43,7

ANEXO Nº 5
PRUEBAS PRELIMINARES, PRUEBAS FITOQUIMICAS Y
VALORACIÓN ACIDO – BASE REALIZADAS AL EXTRACTO
OBTENIDO

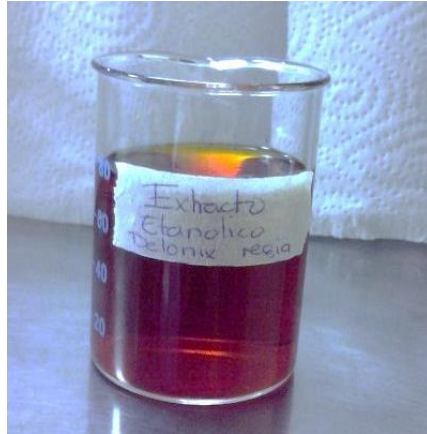


Figura Nº 16: Extracto etanólico obtenido de la maceración de las flores de *Delonix regia*



Figura Nº 17: Extracto de pétalos de flores de *Delonix regia* (árbol de fuego) frente a Ácido Clorhídrico 0.1N e Hidróxido de Sodio 0.1N respectivamente



Figura N° 18: Resultados obtenido de la prueba para flavonoides



Figura N° 19: Resultados obtenido luego de exponer el pétalo a vapores de amoníaco.

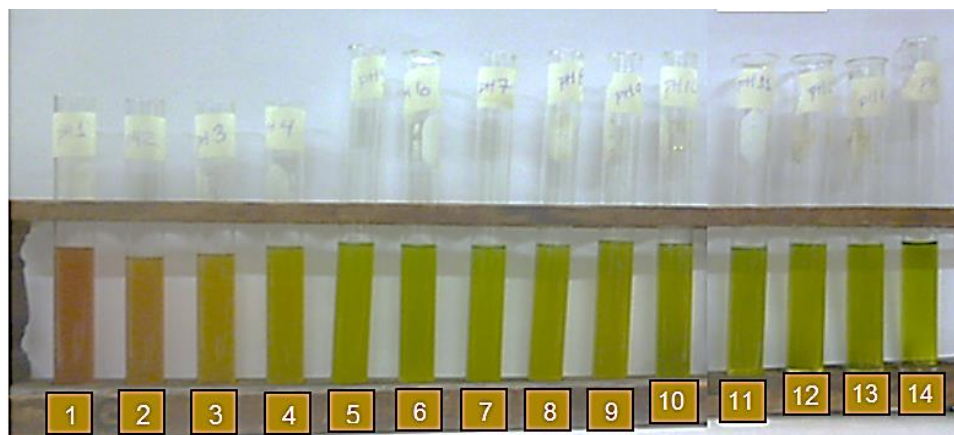


Figura N° 20: Escala de pH obtenido a partir del extracto etanólico de pétalos de flores de *Delonix regia* (árbol de fuego).

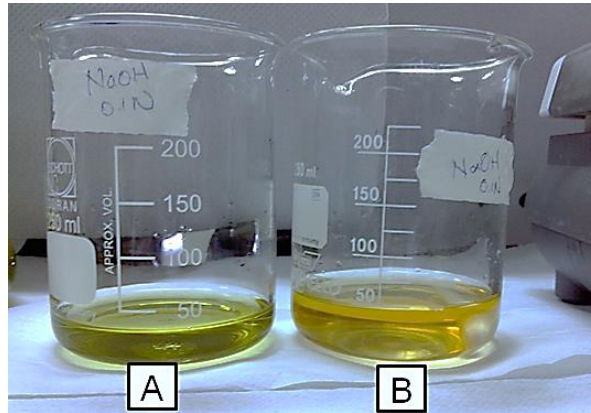


Figura N° 21: Valoración ácido fuerte - base fuerte con extracto etanólico de los pétalos de las flores de *Delonix regia* antes del punto final (A) y después del punto final (B)



Figura N° 22: Valoración ácido débil - base fuerte con extracto etanólico de los pétalos de las flores de *Delonix regia* antes del punto final (A) y después del punto final (B)

ANEXO N° 6
CALCULOS

PREPARACION DE HIDROXIDO DE SODIO (NaOH) 0.1N (para 1000.0mL) ⁽⁴⁾

Datos:

$$PM_{(\text{NaOH})} = 40.0 \text{ g/mol}$$

$$N = \frac{\text{g/PM}}{\text{vol}}$$

Despejando:

$$g = 1\text{L} * 0.1\text{N} * 40.0\text{g/mol}$$

$$g = 4.0\text{g de NaOH}$$

NORMALIDAD REAL DE HIDROXIDO DE SODIO (NaOH) 0.1N ⁽³⁾

$$N = \frac{[(\text{g Biftalato de potasio}) / (\text{Meq. de Biftalato de potasio} \times V \text{ (mL) gastado})]$$

Gramos de Biftalato de potasio en alícuota tomada de 10mL = 0.20422g

Peq de Biftalato de potasio = PM/eq = 204.22/mol /1 = 204.22 eq

Meq de Biftalato de potasio = 204.22eq/1000 = 0.20422

Valoración N°1

Volumen gastado de NaOH = 10.0 mL

$$N_{\text{hidróxido de sodio}} = [(0.20422\text{g}) / (0.20422\text{Meq} \times 10.0 \text{ mL})]$$

$$N_{\text{hidróxido de sodio}} = 0.1000$$

Valoración N°2

Volumen gastado de NaOH = 10.1 mL

$$N_{\text{hidróxido de sodio}} = [(0.20422\text{g}) / (0.20422\text{Meq} \times 10.1 \text{ mL})]$$

$$N_{\text{hidróxido de sodio}} = 0.0990$$

Valoración N°3

Volumen gastado de NaOH = 10.1 mL

$$N_{\text{hidróxido de sodio}} = [(0.20422\text{g}) / (0.20422\text{Meq} \times 10.1 \text{ mL})]$$

$$N_{\text{hidróxido de sodio}} = 0.0990$$

Valoración N°4

Volumen gastado de NaOH = 9.8 mL

$$N_{\text{hidróxido de sodio}} = [(0.20422\text{g}) / (0.20422\text{Meq} \times 9.8 \text{ mL})]$$

$$N_{\text{hidróxido de sodio}} = 0.1020$$

Valoración N°5

Volumen gastado de NaOH = 10.0 mL

$$N_{\text{hidróxido de sodio}} = [(0.20422\text{g}) / (0.20422\text{Meq} \times 10.0 \text{ mL})]$$

$$N_{\text{hidróxido de sodio}} = 0.1000$$

PREPARACION DE BIFTALATO ÁCIDO DE POTASIO [$\text{KHC}_6\text{H}_4(\text{COO})_2$]

0.1N (para 100.0mL) ⁽²⁰⁾

Datos:

$$PM_{[\text{KHC}_6\text{H}_4(\text{COO})_2]} = 204.23 \text{ g/mol}$$

$$N = \frac{\text{g}/PM}{vol}$$

Despejando:

$$g = 0.1\text{L} * 0.1\text{N} * 204.23 \text{ g/mol}$$

$$g = 2.0423 \text{ g de Biftalato ácido de potasio}$$

PREPARACION DE ACIDO CLORHIDRICO (HCl) 0.1N (para 1000.0mL) ⁽⁴⁾

Datos:

$$PM_{(HCl)} = 36.46 \text{ g/mol}$$

$$\% \text{ pureza}_{(HCl)} = 37\%$$

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

Calculando:

$$36.46\text{g} \text{ ————— } 1\text{N} \text{ ————— } 1\text{L}$$

$$x = \text{————— } 0.1\text{N} \text{ ————— } 1\text{L}$$

$$x = 3.646\text{g}$$

Según pureza:

$$37.0\text{g HCl} \text{ ————— } 100\text{g de solución}$$

$$3.646\text{g HCl} \text{ ————— } x$$

$$x = 9.85\text{g de HCl en solución}$$

Según pureza:

$$\rho = m/v$$

Donde:

ρ = densidad

m = masa

V = volumen

Despejando:

$$v = 9.85\text{g HCl} / 1.19 \text{ g/ml}$$

$$v = 8.28\text{mL de HCl} \text{ [] para } 1000.0\text{mL de solución } 0.1\text{N}$$

$$\approx 8.3\text{mL de HCl} \text{ []}$$

NORMALIDAD REAL DE ACIDO CLORHIDRICO (HCl) 0.1N⁽⁴⁾

$$N = [(mg \text{ Carbonato de sodio}) / (\text{Meq. de Carbonato de sodio} \times V \text{ (mL) gastado})]$$

Miligramos de Carbonato de sodio en alícuota tomada de 10mL = 0.10601g

Peq de Carbonato de sodio = PM/eq = 105.99g/mol /2 = 52.995 eq

Meq de Carbonato de sodio = 52.995eq/1000 = 0.053

Valoración N°1

Volumen gastado de HCl = 20.0 mL

$$N_{\text{ácido clorhídrico}} = [(0.10601mg) / (0.053Meq \times 20.0 \text{ mL})]$$

$$N_{\text{ácido clorhídrico}} = 0.1000$$

Valoración N°2

Volumen gastado de HCl = 20.1 mL

$$N_{\text{ácido clorhídrico}} = 0.0995$$

Valoración N°3

Volumen gastado de HCl = 19.9 mL

$$N_{\text{ácido clorhídrico}} = 0.1005$$

Valoración N°4

Volumen gastado de HCl = 20.0 mL

$$N_{\text{ácido clorhídrico}} = 0.1000$$

Valoración N°5

Volumen gastado de HCl = 20.0 mL

$$N_{\text{ácido clorhídrico}} = 0.1000$$

PREPARACION DE ACIDO ACETICO (CH₃COOH) 0.1N (para 1000.0mL) ⁽⁴⁾

Datos:

$$PM_{(CH_3COOH)} = 60.052 \text{ g/mol}$$

$$\% \text{ pureza}_{(CH_3COOH)} = 99.9\%$$

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

Calculando:

$$60.052\text{g} \text{ ————— } 1\text{N} \text{ ————— } 1\text{L}$$

$$X = \text{————— } 0.1\text{N} \text{ ————— } 1\text{L}$$

$$X = 6.0052\text{g}$$

Según pureza:

$$99.9\text{g } CH_3COOH \text{ ————— } 100\text{g de solución}$$

$$6.0052\text{g } CH_3COOH \text{ ————— } x$$

$$x = 6.0112\text{g de } CH_3COOH \text{ en solución}$$

Según pureza:

$$\rho = m/v$$

Donde:

ρ = densidad

m = masa

V = volumen

Despejando:

$$v = 6.0112\text{g } CH_3COOH / 1.05 \text{ g/ml}$$

$$v = 5.7\text{mL de } CH_3COOH \text{ glacial para } 1000.0\text{mL de solución } 0.1\text{N}$$

$$\approx 6.0\text{mL de } CH_3COOH \text{ glacial}$$

NORMALIDAD REAL DE ACIDO ACETICO (CH₃COOH) 0.1N ⁽⁴⁾

$$C_1V_1 = C_2V_2 \quad C_2 = \frac{C_1V_1}{V_2}$$

$$C_{\text{ácido acético}} = \frac{C_{\text{NaOH}} \times V_{\text{NaOH}}}{V_{\text{ácido acético}}}$$

Concentración de Hidróxido de sodio = 0.1000N

Alícuota tomada de Hidróxido de sodio 0.1N = 10.0mL

Valoración N°1

Volumen gastado de CH₃COOH = 10.0 mL

$C_{\text{ácido acético}} = [(0.1N \times 10.0\text{mL}) / (10.0 \text{ mL})]$

$N_{\text{ácido acético}} = 0.1000$

Valoración N°2

Volumen gastado de CH₃COOH = 9.9 mL

$N_{\text{ácido acético}} = 0.1010$

Valoración N°3

Volumen gastado de CH₃COOH = 10.1 mL

$N_{\text{ácido acético}} = 0.0990$

Valoración N°4

Volumen gastado de CH₃COOH = 9.9 mL

$N_{\text{ácido acético}} = 0.1010$

Valoración N°5

Volumen gastado de CH₃COOH = 10.1 mL

$N_{\text{ácido acético}} = 0.0990$

Cálculos para obtener el punto final graficando la segunda derivada a partir de los datos obtenidos en las titulación ácido fuerte - base fuerte y ácido débil - base fuerte. (Ejemplo de cálculo del extracto etanólico de las flores de *Delonix regia* con HCl 0.1N) ^(8, 11)

Formulas:

$$\Delta V = mL_2 - mL_1$$

$$\Delta pH = pH_1 - pH_2$$

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

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

Datos tomados a 15 mL gastados de HCl 0.1N

$$\Delta V = mL_2 - mL_1$$

$$\Delta V = 15.0 - 10.0 = 5.0$$

$$\Delta pH = pH_1 - pH_2$$

$$\Delta pH = 12.04 - 10.94 = 1.10$$

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

$$\text{Primera Derivada} = 1.10 / 5.0 = 0.22$$

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

$$\text{Segunda Derivada} = 0.22 - (0.07) = 0.15$$