



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO**

PROTOCOLO DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PARA SERVICIO SOCIAL

Caracterización espectrofotométrica de extractos acuosos de *Gerbera jamesonii* como indicadores ácido-base

ASESOR INTERNO: Dra. Rubria Marlen Martínez Casares

ASESOR EXTERNO: Dra. en C. Julia Dolores Toscano Garibay

AUTOR: Navarrete Pérez Oscar¹

MATRÍCULA: 2182033630

Lugar de realización: Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca.

Periodo de realización: De 01 de agosto de 2022 al 31 de enero de 2023.

¹- Alumno de la Lic. en Química Farmacéutica Biológica, Departamento de Sistemas Biológicos, División de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco.

Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Coyoacán, 04960, Ciudad de México.

1. Introducción

El ser humano sigue en la búsqueda constante de herramientas que ayuden en el desarrollo científico para dar solución a ciertos eventos que se presentan en el día a día y que resultan de sumo interés para la comunidad científica, uno de estos eventos es la relación de acidez y basicidad los cuales son parámetros de suma importancia para muchos experimentos científicos. El pH es definido como el logaritmo negativo de la concentración de ión hidronio ($-\log [H^+]$) y puede ser determinado visualmente utilizando indicadores de pH, que por su naturaleza pueden ser de origen natural o sintético, estos indicadores son compuestos químicos halocrómicos que al agregarse en pequeñas cantidades se visualiza un cambio de color determinado por el pH de la solución. Dentro de los indicadores de pH naturales se encuentran compuestos obtenidos de distintos géneros de plantas, estos compuestos generalmente son metabolitos sensibles a ciertos pH, es decir, se protonan y desprotonan siendo esta reacción la responsable de los cambios de color. Algunos de los compuestos reportados como indicadores de pH son: los flavonoides, flavonoles, flavonoides acilados, antocianinas, antocianinas aciladas y/o glucosiladas, quininas, iminas, polimetinas, naftaquinonas, antraquinonoides, indigoides; dihidropiranos diarilmetanos caroteno, etc. (Khan & Farooqui, 2011). Un ejemplo es *Gerbera jamesonii* la cual ha demostrado tener metabolitos y funciona como indicador natural (Shivaji, et. al., 2014).

La extracción de estos indicadores naturales se realiza mediante métodos convencionales como la maceración o la hidrodestilación; y por métodos no convencionales, como son la extracción con fluidos supercríticos, la extracción con líquidos presurizados, entre otros, los cuales han surgido como alternativas a los métodos convencionales (Miranda, et. al., 2021).

Es importante conocer las propiedades físico-químicas de estos indicadores obtenidos de fuentes naturales, para lo cual es necesario realizar una caracterización espectrofotométrica basada en la absorción de la radiación en la región visible (380 a 780 nm).

Por lo anterior, en la presente investigación se caracterizaron los compuestos obtenidos de *Gerbera jamesonii* mediante espectroscopía de luz visible para cuantificar los cambios de absorción en la región visible de los extractos a partir de la longitud y amplitud de onda máximas en pH ácido y básico.

2. Marco teórico

A lo largo de la historia, el ser humano ha tratado de buscar herramientas que le permitan esclarecer e indagar acerca de nuevos descubrimientos científicos que aumente el conocimiento en distintos ámbitos de la ciencia. Uno de estos ámbitos abarca a la relación de acidez y basicidad dentro de una sustancia, siendo un parámetro de vital importancia para muchos experimentos científicos.

2.1. pH

La medición del pH, o la acidez o basicidad, es crucial en muchos experimentos científicos. Es definido como el logaritmo negativo de la concentración de ión hidronio. Un equilibrio de pH alto significa una baja concentración de iones y un pH bajo significa una concentración alta. Los resultados de una prueba de pH se aplican a una escala de pH reconocida internacionalmente (Contreras & Rojas, 2016).

2.2. Escala de pH

La escala del pH fue inventada en 1909 por Soren Peder Pauritz Sorenson. Él era un químico en el Laboratorio Carlsberg en Copenhagan, Dinamarca. La escala se conocía como la escala Sorenson hasta 1924, cuando el nombre fue revisado y cambiado. La escala de pH va de 0 a 14, con el número 7 que representa al pH neutro. Neutro significa que no es ácido ni básico. Si el pH es inferior a 7, es ácido. Si es superior a 7, es básico (Contreras & Rojas, 2016).

2.3. Indicadores de pH

Un indicador de pH es un compuesto químico halocrómico que se agrega en pequeñas cantidades a una solución para que el pH (acidez o basicidad) de la solución pueda determinarse visualmente. Por lo tanto, un indicador de pH es un detector químico de iones de hidronio (H_3O^+) o iones de hidrógeno (H^+) en el modelo de Arrhenius. Normalmente, el indicador hace que el color de la solución cambie según el pH (Pourjavaher, et. al., 2017). Estos indicadores son utilizados para dar un valor aproximado del pH de una solución química y como menciona Helmenstine (2019), la combinación de dos o más indicadores aumenta la precisión de la medición.

2.4. Indicadores de pH sintéticos

Los indicadores sintéticos fueron sintetizados y procesados por el hombre, cumplen la misma función que los naturales, pero con una mayor eficiencia, ya que estos fueron sintetizados para virar en cierto rango y mostrar un marcado cambio de color (Ballesteros & Diaz, 2017). Algunos ejemplos de indicadores artificiales pueden ser el dicromato de potasio, anaranjado de Metilo, malvidina, entre otros (Castillo, 2020).

2.5. Indicadores de pH naturales

Los indicadores de pH naturales son aquellas sustancias que pueden reaccionar con los protones de algún medio y generar una coloración. Se extraen de la naturaleza y algunos ejemplos son la col morada, los extractos de cereza y mucha variedad de flores (Castillo, 2020).

En la actualidad se ha descubierto que diversas plantas con flores del género *Gerbera*, han sido capaces de ser utilizadas como indicadores de pH, tal es el caso de *Gerbera jamesonii* quien ha demostrado características funcionales para ser empleada como un indicador natural de pH (Shivaji, et. al., 2014).

2.6. *Gerbera jamesonii*

Gerbera jamesonii es una especie de planta con flores del género *Gerbera* que pertenece a la tribu *Mutisieae* basal dentro de la gran familia Asteraceae (o Compositae). Es autóctona del sudeste de África y comúnmente conocida como la margarita de Barberton, la margarita de Transvaal y como Barbertonse madeliefie o Rooigousblom en afrikaans (Maitra, et. al., 2020).

El género fue nombrado en honor a Traugott Gerber. El epíteto de la especie fue propuesto por Harry Bolus, pero publicado por primera vez por Richard Wills Adlam en 1888 (Carrodegua & Orozco, 2020). *Gerbera jamesonii* es una hierba perenne con mechones con los escapos florales desnudos de hasta 75 cm de altura. Las hojas pecioladas, profundamente onduladas o lobuladas miden de 15 a 42 cm de largo y de 4 a 14 cm de ancho. La planta produce flores de 4 a 5 cm de diámetro con flores liguladas normalmente de color rojo anaranjado y se reproduce asexualmente (Carrodegua & Orozco, 2020). *Gerbera jamesonii* es endémica de Sudáfrica, aunque se puede encontrar en varios países de América Latina (Maitra, et. al., 2020).

La extracción del pigmento de diversas plantas incluyendo a *Gerbera jamesonii* puede realizarse por diversos métodos los cuales están involucrados directamente en la obtención de colorantes.

2.7. Métodos de extracción de pigmentos

Entre los muchos pasos involucrados en la producción de colorantes naturales, la extracción de pigmentos es uno de los más importantes. La extracción Soxhlet, la maceración y la hidrodestilación son métodos convencionales que han sido ampliamente utilizados en la industria y en el laboratorio por mucho tiempo. Para fines de esta investigación el método de maceración es de suma importancia ya que el material vegetal está en contacto con un volumen dado de disolvente durante un período de tiempo determinado, aunque el principal inconveniente que se puede presentar es la incompleta extracción de los principios en la planta (Castillo & Ramírez, 2006). Recientemente, varios métodos no convencionales, como la extracción con fluidos supercríticos, la extracción con líquidos presurizados, la extracción asistida por microondas, la extracción asistida por ultrasonidos, la extracción por campos eléctricos pulsados y la extracción asistida por enzimas han surgido como alternativas a los métodos convencionales debido a las ventajas del primero en términos de menor consumo de solvente, menor tiempo de extracción y mayor respeto al medio ambiente (Miranda, et. al., 2021).

Una vez realizada la extracción de los pigmentos, es necesario realizar una caracterización que permita conocer las propiedades espectrofotométricas del pigmento basada en la espectroscopia de luz visible.

2.8. Caracterización espectrofotométrica

El estudio a nivel bioquímico de cualquier biomolécula requiere la utilización de técnicas analíticas que permitan su determinación cualitativa y cuantitativa, así como su caracterización físicoquímica y biológica. Uno de los métodos más sencillos, accesibles, útiles y utilizados es la espectroscopia ultravioleta-visible, la cual será la técnica a seguir en esta investigación. Dentro de ella, se pueden identificar y cuantificar biomoléculas en solución y en muestras biológicas, con el empleo de reactivos específicos que reaccionan con el compuesto a analizar y forman un producto coloreado que permite detectarlo en muestras complejas.

Esta técnica se fundamenta en la capacidad de las moléculas para absorber radiaciones, entre ellas las radiaciones dentro del espectro UV visible. Las longitudes de onda de las

radiaciones que una molécula puede absorber y la eficiencia con la que se absorben dependen de la estructura atómica y de las condiciones del medio (pH, temperatura, fuerza iónica, constante dieléctrica), por lo que dicha técnica constituye un valioso instrumento para la determinación y caracterización de biomoléculas (Bastidas, et. al., 2020).

En espectroscopia el término luz no sólo se aplica a la forma visible de radiación electromagnética, sino también a las formas UV e IR, que son invisibles. Moreno y colaboradores (2021) mencionan que en espectrofotometría de absorbancia se utilizan las regiones del ultravioleta (UV cercano, de 195-400 nm) y el visible (400-780 nm), es por esto que cuando un rayo de luz de una determinada longitud de onda de intensidad lo incide perpendicularmente sobre una disolución de un compuesto químico que absorbe luz o cromóforo, el compuesto absorberá una parte de la radiación incidente y dejará pasar el resto. Esto refleja dos variables importantes en esta técnica como lo es la transmitancia y la absorbancia. La transmitancia (T) de una sustancia en solución es la relación entre la cantidad de luz transmitida que llega al detector una vez que ha atravesado la muestra y la cantidad de luz que incide sobre ella. La transmitancia nos da una medida física de la relación de intensidad incidente y transmitida al pasar por la muestra. Por otro lado, la absorbancia (A) es un concepto más relacionado con la muestra puesto que nos indica la cantidad de luz absorbida por la misma. La cantidad de luz absorbida dependerá de la distancia que atraviesa la luz a través de la solución del cromóforo y de la concentración de éste (Bastidas, et. al., 2020).

3. Planteamiento del problema y justificación

El uso de indicadores de medición de la concentración de ión hidronio y de su logaritmo negativo (pH) es importante en diversas áreas de la ciencia. La medición de pH se utiliza en la preservación de los alimentos, la determinación de la eficiencia de reacciones químicas o enzimáticas, el crecimiento de cultivos celulares, entre otros múltiples procesos. Los indicadores permiten distinguir estas variaciones de pH mediante cambio de color en la luz visible ya que son percibidos a simple vista. Los indicadores frecuentemente son moléculas sintéticas de amplio uso en el laboratorio y otros ámbitos, sin embargo, ahora existe una tendencia a la búsqueda de indicadores ecoamigables con el ambiente y que provengan de fuentes naturales y renovables. Por otro lado, Khan, P. y Farooqui, M. (2011) han reportado que la coloración de los pétalos de diversas especies de plantas florales es debida a metabolitos como flavonoides, antocianinas, iminas, entre otros. Estos metabolitos son sensibles a las condiciones de pH del suelo de cultivo, e inclusive algunas flores cambian de color en función del pH metabólico de la planta. Por lo anterior, en este proyecto se identificó y caracterizó la existencia de metabolitos en extractos de las flores de *Gerbera jamesonii*, para su futura aplicación en investigación, desarrollo y procesos de manufactura.

4. Objetivo general

Caracterizar los extractos acuosos de *Gerbera jamesonii* mediante espectroscopía de luz visible

4.1. Objetivos específicos

- Obtener extractos acuosos de *Gerbera jamesonii* mediante maceración.
- Determinar las características espectrofotométricas de los extractos mediante la medición de la longitud y amplitud de onda máximas en pH ácido y básico.
- Identificar las moléculas responsables del viraje dentro de los experimentos realizados.
- Cuantificar los cambios en la absorción de luz visible de los extractos en pH ácido y básico.

5. Métodos

5.1. Obtención de las muestras

Las flores de *Gerbera jamesonii* fueron adquiridas de los mercados locales de la zona Ixtapaluca, Edo. México, durante la temporada de verano en el mes de julio del año 2022. Se adquirió la mayor gama de colores existentes incluyendo flores blancas. Una vez recolectadas, se lavaron con agua destilada para remover las impurezas de mayor tamaño. El exceso de agua destilada de los pétalos fue retirado mediante el uso de una toalla de papel absorbente. Después de esto, los pétalos serán removidos evitando el arrastre de anteras y/o filamentos. Finalmente, los pétalos limpios fueron secados con calor en un desecador de alimentos de la marca TYC a 55 °C por 1.5 hrs.

5.2. Obtención de los extractos

Los pétalos desecados fueron fragmentados con un triturador hasta obtener partículas de menor tamaño posible. Se pesaron 2 g. del polvo y fueron colocados en 40 mL de agua destilada para preparar un extracto acuoso con concentración al 5% p/v. La mezcla se colocó en reposo por 50 minutos hasta llegar a una temperatura ambiente. Al finalizar la infusión fue filtrada a través de una gasa para los restos más grandes y después por papel filtro de 5 µm para los restos más pequeños.

Del extracto al 5% p/v se realizaron dos diluciones seriadas, la primera al 50% para obtener una concentración final de 2.5% y la segunda al 75% para obtener la concentración de 1.25%. Estas diluciones se centrifugaron a 3500 rpm durante 5 minutos en la centrífuga análoga de la marca Zeigen (modelo Cent-6T). El sobrenadante fue conservado para ser utilizado en caso de repetir algún experimento con esas concentraciones.

5.3. Preparación de las curvas de pH

Para la prueba de viraje se preparan las siguientes diluciones de ácido nítrico y/o hidróxido de sodio, ver **tabla 1 y 2**:

Tabla 1. Diluciones realizadas con ácido nítrico (HNO₃)

No. Dilución	Diluciones		
1	20 ml de H ₂ O	+	35 µl de HNO ₃
2	3 ml de la solución 1	+	18 ml de H ₂ O
3	3 ml de la solución 2	+	18 ml de H ₂ O
4	3 ml de la solución 3	+	18 ml de H ₂ O
5	3 ml de la solución 4	+	18 ml de H ₂ O
6	3 ml de la solución 5	+	18 ml de H ₂ O

Tabla 2. Diluciones realizadas con hidróxido de sodio (NaOH)

No. Dilución	Diluciones		
1	200 ml de H ₂ O	+	0.8 g de NaOH
2	100 ml de la solución 1	+	100 ml de H ₂ O
3	25 ml de la solución 2	+	175 ml de H ₂ O
4	33 ml de la solución 3	+	166 ml de H ₂ O
5	50 ml de la solución 4	+	150 ml de H ₂ O
6	50 ml de la solución 5	+	150 ml de H ₂ O
7	50 ml de la solución 6	+	150 ml de H ₂ O
8	150 ml de H ₂ O		

A todas las diluciones se les midió el pH utilizando un potenciómetro portátil modelo Grochek HI98127 de la marca Hanna calibrado en donde se adicionó el indicador natural y fue comparado con el color indicador de las tiras de pH.

5.4. Caracterización espectrofotométrica

Para la lectura de las longitudes y amplitudes de onda, se tomaron alícuotas de las muestras infusionadas al 5%, 2.5% y 1.25% de aproximadamente 1.6 mL para cada una. Estas alícuotas también fueron centrifugadas a 3500 rpm durante 5 minutos con una temperatura controlada de 20 °C usando la minicentrífuga Galaxy MiniStar de la marca VWR.

En un tubo Eppendorf se colocaron 1000 μ L de cada dilución de ácido nítrico / hidróxido de sodio y 250 μ L de las respectivas muestras de la infusión (diluciones de 5%, 2.5% y 1.25%). Estas muestras se homogeneizaron en el Vortex mixer de la marca Techne a 2200 rpm durante 30 segundos, al termino fue cuantificada la absorbancia.

Las preparaciones fueron leídas utilizando un espectrofotómetro de luz visible prefabricado de Open source diseñado por GaudiLabs (GaudiLabs LLC, Luzern, Switzerland). La adquisición y cuantificación de las imágenes se obtuvo en el software de uso libre SpectralWorkbench (<https://spectralworkbench.org>) y en el software Spectragryph 1.2.

5.5. Cuantificación de los cambios de absorbancia

Para la cuantificación de la absorbancia, se depositaron alícuotas de 100 μ l en microplacas de 96 pozos y se utilizó un lector de Microplacas para Absorbancia (Biotek, modelo ELx800) a una longitud de onda de 405 nm.

6. Resultados y Discusión

6.1. Obtención de las muestras

La obtención de las muestras desecadas a partir de la recolección, limpieza y deshidratación de las flores de *Gerbera jamesonii* fue adecuada ya que presentaron características favorables como la textura, color, forma y durabilidad, lo cual favoreció la manipulación de las muestras respecto a la obtención de los extractos (**Figuras 1 y 2**).



Figura 1. Flores lavadas con agua destilada









Figura 2. Flores desecadas a 55 °C por 1.5 hrs.






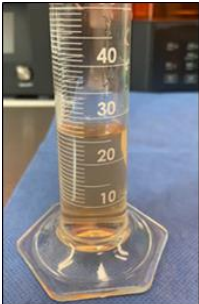
Una vez obtenidas las muestras, se almacenaron para poder realizar la obtención de los extractos como parte de la metodología planteada.

6.2. Obtención de los extractos

Los pétalos desecados fueron fragmentados y colocados para realizar su respectiva infusión obteniendo el rendimiento y las características de cada extracto son presentadas en la **tabla 3**.

Tabla 3. Extractos obtenidos para cada flor.

Color de flor	Infusión	Tonalidad y rendimiento de la infusión	Características del extracto
Amarilla			Volumen de rendimiento: 30 mL Tonalidad: Marrón intensa Olor: Dulce pH: 5.6.
Blanca			Volumen de rendimiento: 29 mL Tonalidad: Marrón intensa Olor: Frutal pH: 5.4.
Roja			Volumen de rendimiento: 30 mL Tonalidad: Marrón intensa Olor: Frutal pH: 5.7.

Morada			Volumen de rendimiento: 30 mL Tonalidad: Marrón intensa Olor: Frutal pH: 5.7.
Marrón			Volumen de rendimiento: 31 mL Tonalidad: Marrón intensa Olor: Frutal pH: 5.4.
Rosa			Volumen de rendimiento: 26 mL Tonalidad: Amarillo claro Olor: Dulce pH: 5.1.

6.3. Preparación de las curvas de pH

A todas las diluciones de ácido nítrico y/o hidróxido de sodio se les midió el pH utilizando un potenciómetro calibrado. Los resultados se muestran en la **tabla 4** y **5**.

Tabla 4. Resultados de la medición con potenciómetro para el valor de pH de las diluciones realizadas con ácido nítrico (HNO_3)

Dilución	pH
1	0.99
2	2.09
3	3.01
4	4.06
5	5.07

6	6.06
7	7.05

Tabla 5. Resultados de la medición con potenciómetro para el valor de pH de las diluciones realizadas con hidróxido de sodio (NaOH)

Dilución	pH
1	14.05
2	13.05
3	12.03
4	11.07
5	10.05
6	9.03
7	8.03

6.4. Caracterización espectrofotométrica

Los colores de absorción presentados a continuación, corresponden a las longitudes de onda de luz que son absorbidas por la combinación del extracto y la dilución de pH. Estas longitudes de onda de absorción varían según la estructura y las propiedades de las moléculas presentes en la muestra por lo que los colores de absorción en el espectro visible fueron descritos de la siguiente manera (**Figura 3**):

Colores de acuerdo a la zona de absorción

- Violeta: Longitudes de onda entre 400 nm y 420 nm.
- Azul: Longitudes de onda entre 420 nm y 490 nm.
- Verde: Longitudes de onda entre 490 nm y 570 nm.
- Amarillo: Longitudes de onda entre 570 nm y 590 nm.
- Naranja: Longitudes de onda entre 590 nm y 620 nm.
- Rojo: Longitudes de onda entre 620 nm y 750 nm.

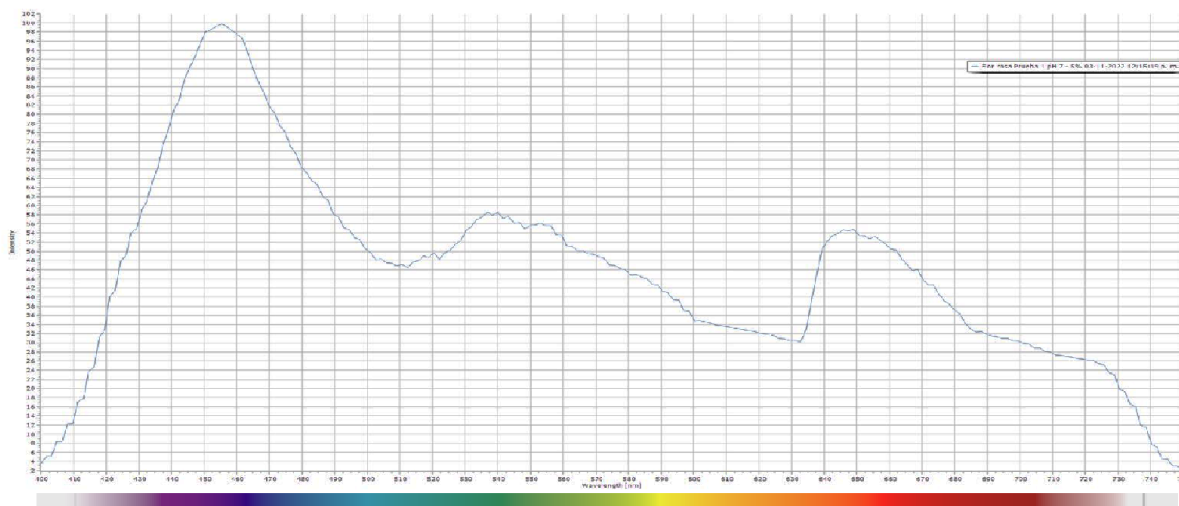


Figura 3. Ejemplo de los colores de absorción asignados por el espectrofotómetro de luz visible Open Source para la flor rosa a pH 7 en una concentración del 5% p/v, donde se observan tres picos pronunciados en las zonas azul, verde y roja.

Cabe destacar que estos rangos y colores son los obtenidos en esta investigación, los cuales fueron fundamentados con el espectrofotómetro de luz visible prefabricado de Open Source diseñado por GaudiLabs (GaudiLabs LLC, Luzern, Switzerland) para apreciar una mayor precisión.

A partir de estos rangos establecidos, se logró reconocer que los cambios en la absorción están dados en función de la concentración utilizada para cada dilución del extracto. Los resultados obtenidos están de acuerdo a lo reportado por Matías, E. L. (2008), los cuales mencionan que las moléculas que producen los distintos virajes al estar separadas por longitud de onda pueden ser descritas dadas sus características espectrofotométricas.

6.5. Cuantificación de los cambios de absorbancia y su relación con la concentración

Respecto a la cuantificación a la longitud establecida desde un inicio, los cambios de absorbancia del pH ácido/básico se logró identificar que la concentración fue directamente proporcional a la absorbancia ya que en el caso del experimento de menor concentración (1.25% p/v) se aprecia una absorbancia muy baja tanto para los pH ácidos como para los básicos, lo que indica que gran parte de la luz es absorbida por la muestra. Por el contrario, las muestras que tuvieron una mayor concentración (5 y 2.5% p/v) presentaron una absorbancia más alta para ambos pH específicamente en los más altos (**Tabla 6**).

Tabla 6. Absorbancias obtenidas para pH ácido y básico.

Flor	Dilución (p/v)	Promedio de absorbancias en medio ácido (Abs)	Desviación estándar promedio de las absorbancias en medio ácido	Promedio de absorbancias en medio básico (Abs)	Desviación estándar promedio de las absorbancias en medio básico
Amarilla	5 %	0.027	0.003	0.171	0.003
	2.5 %	0.006	0.003	0.093	0.004
	1.25 %	0.001	0.001	0.047	0.004
Blanca	5 %	0.114	0.008	0.240	0.021
	2.5 %	0.054	0.005	0.130	0.006
	1.25 %	0.034	0.006	0.063	0.004
Morada	5 %	0.124	0.008	0.379	0.018
	2.5 %	0.079	0.008	0.230	0.013
	1.25 %	0.053	0.011	0.124	0.011
Rojo	5 %	0.139	0.006	0.353	0.019
	2.5 %	0.063	0.005	0.179	0.009
	1.25 %	0.033	0.004	0.097	0.003
Marrón	5 %	0.291	0.008	0.271	0.009
	2.5 %	0.138	0.007	0.144	0.005
	1.25 %	0.072	0.004	0.075	0.005
Rosa	5 %	0.031	0.002	0.293	0.005
	2.5 %	0.009	0.002	0.134	0.003
	1.25 %	0.000	0.000	0.067	0.008

Lo anterior permitió determinar que a una mayor concentración existe un viraje más fuerte tanto en pH ácido como en básico, aunque para el pH básico se apreció un viraje más intenso en los pH 13 y 14 (**Figuras 4, 5 y 6**).

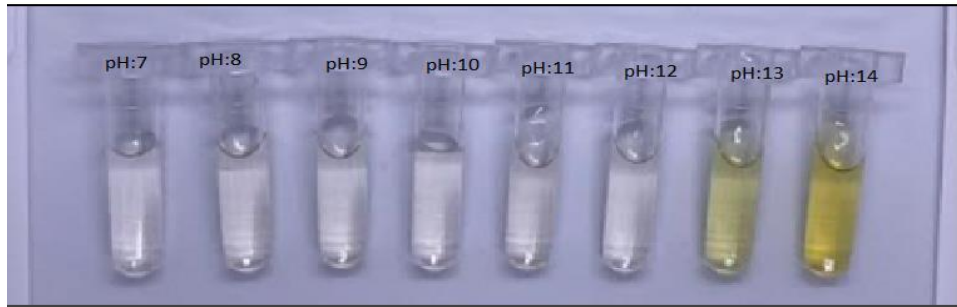


Figura 4. Tonalidad de los distintos pH básicos en reacción con el extracto de flor amarilla (Dilución del 5%)

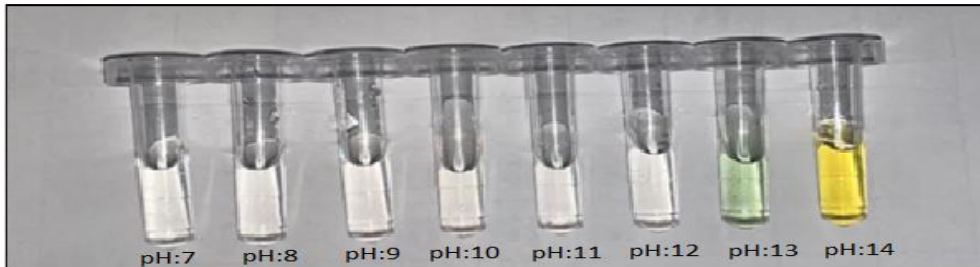


Figura 5. Tonalidad de los distintos pH básicos en reacción con el extracto de flor rosa (Dilución del 5%)

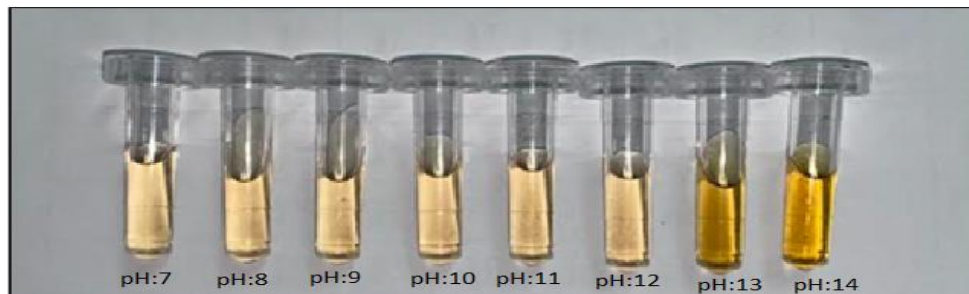


Figura 6. Tonalidad de los distintos pH básicos en reacción con el extracto de flor roja (Dilución del 5%)

6.6. Comportamiento de las moléculas en las zonas de absorción

De acuerdo con las zonas de absorción establecidas en esta investigación (azul, verde y rojo) acompañadas de las medidas obtenidas como son la longitud máxima, la altura máxima y el ancho del pico en cada uno de los espectros obtenidos, las moléculas que posiblemente se ajustan a las características espectrofotométricas son las antocianinas y los flavonoides. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Shivaji, *et al.* (2014), estos autores mencionan que las antocianinas son responsables de la pigmentación en flores y hojas, además tienen un rango de absorción principalmente en la región del violeta y azul del espectro visible y esta absorción varía según el pH del entorno. La absorción máxima de las antocianinas en medio ácido suele encontrarse alrededor de los 500-550 nm, lo que corresponde a la región azul-verde del espectro visible, ver **figura 7**.

En la **figura 7** se observa que la intensidad mayor de los picos en los espectros tuvo una mayor tendencia hacia la región azul y verde y es acompañado de una amplitud mayor y un longitud máximo para todos los experimentos.

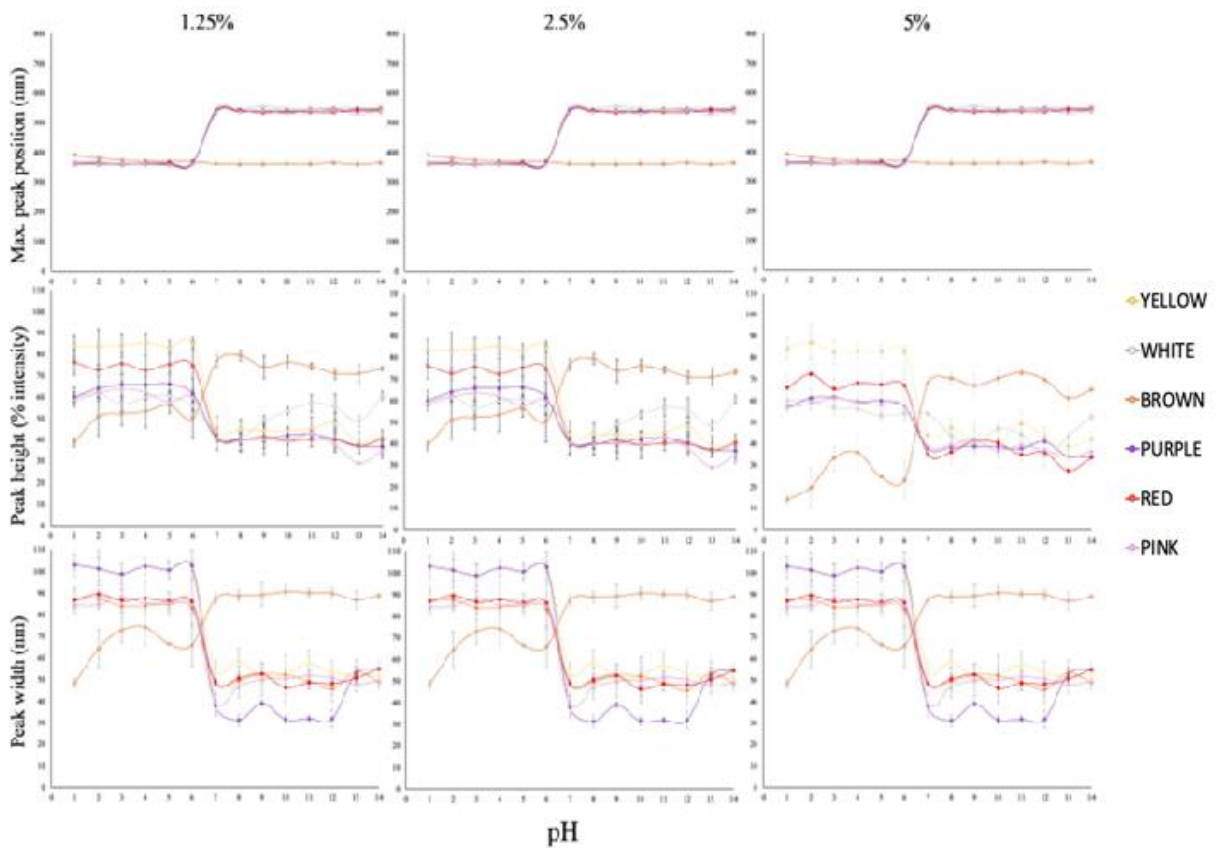


Figura 7. Zona de absorción verde de 490 a 570 nm para los pH 1-14.

En medios alcalinos, las antocianinas tienden a absorber en la región roja que va de los 620 nm a los 750 nm como se aprecia en la **figura 8**, en la cual a pesar de no tener la misma intensidad que los picos para la región azul y verde en el medio ácido, es posible identificar que existe un aumento de la intensidad y altura máxima del pico en esta zona de absorción.

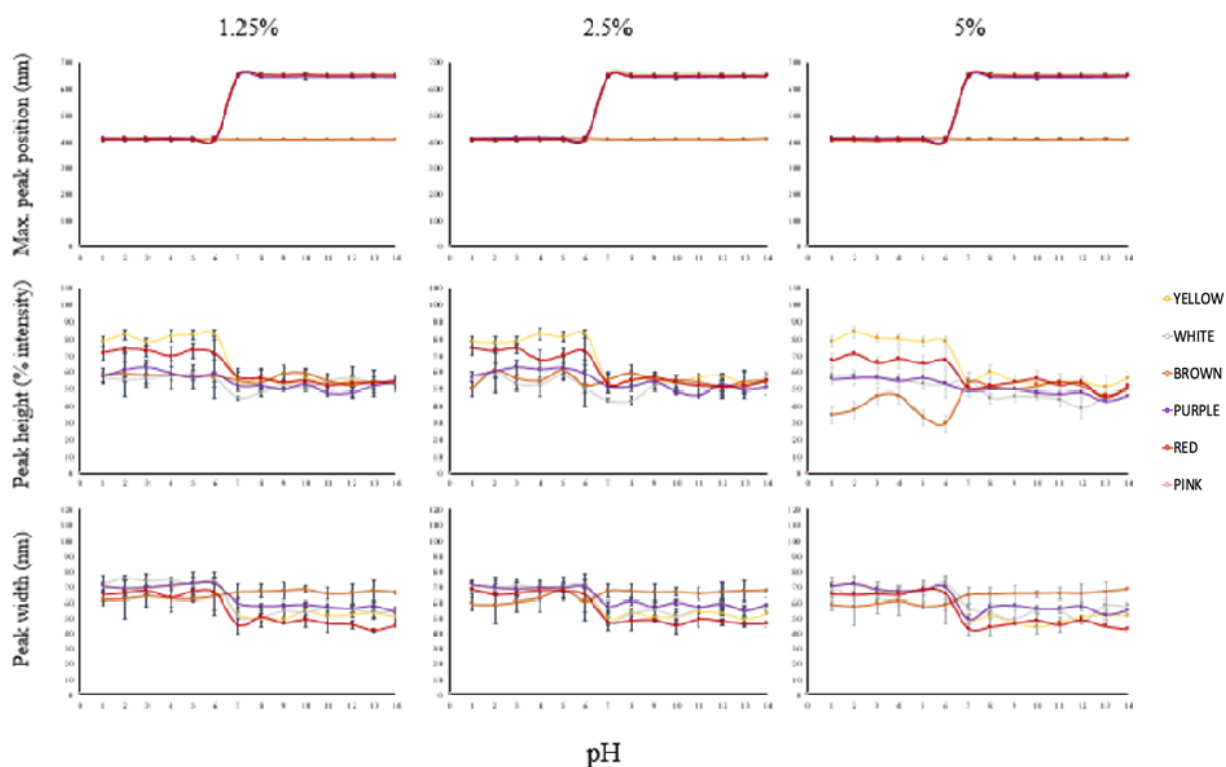


Figura 8. Zona de absorción roja de 620 a 750 nm para los pH 1-14.

De acuerdo con Guerra, M., & Ortega, G. (2006) la absorción de luz por parte de las antocianinas se debe a la presencia de estructuras químicas conjugadas, que contienen enlaces dobles alternados (enlaces π) en su estructura. Estos enlaces π son responsables de la absorción selectiva de fotones en la región del espectro visible.

Por otro lado, los flavonoides son una clase amplia de compuestos que incluyen diversas subclases, como flavonas, flavonoles y flavanonas. Si bien los flavonoides pueden mostrar una absorción máxima en diferentes regiones del espectro UV-visible, algunos de ellos presentan una absorción preferente en la región azul del espectro visible. Esto se debe a que los flavonoides poseen grupos funcionales como los grupos hidroxilo (-OH) y los grupos carbonilo (-C=O) así como anillos aromáticos, que contribuyen a su capacidad de absorción (Rivera, *et al.* 2017).

En general, los flavonoides tienden a tener un rango de absorción más amplio que las antocianinas que puede oscilar entre los 400 y 500 nm (Abonce, *et al.* 2018), lo que abarca la región azul y verde-amarilla del espectro visible como se observa en la **figura 9**, las cuales presentan una intensidad y altura del pico significativamente mayor acompañada de una amplitud proporcional a estos parámetros en comparación de la zona verde (**figura 7**) y roja (**figura 8**),.

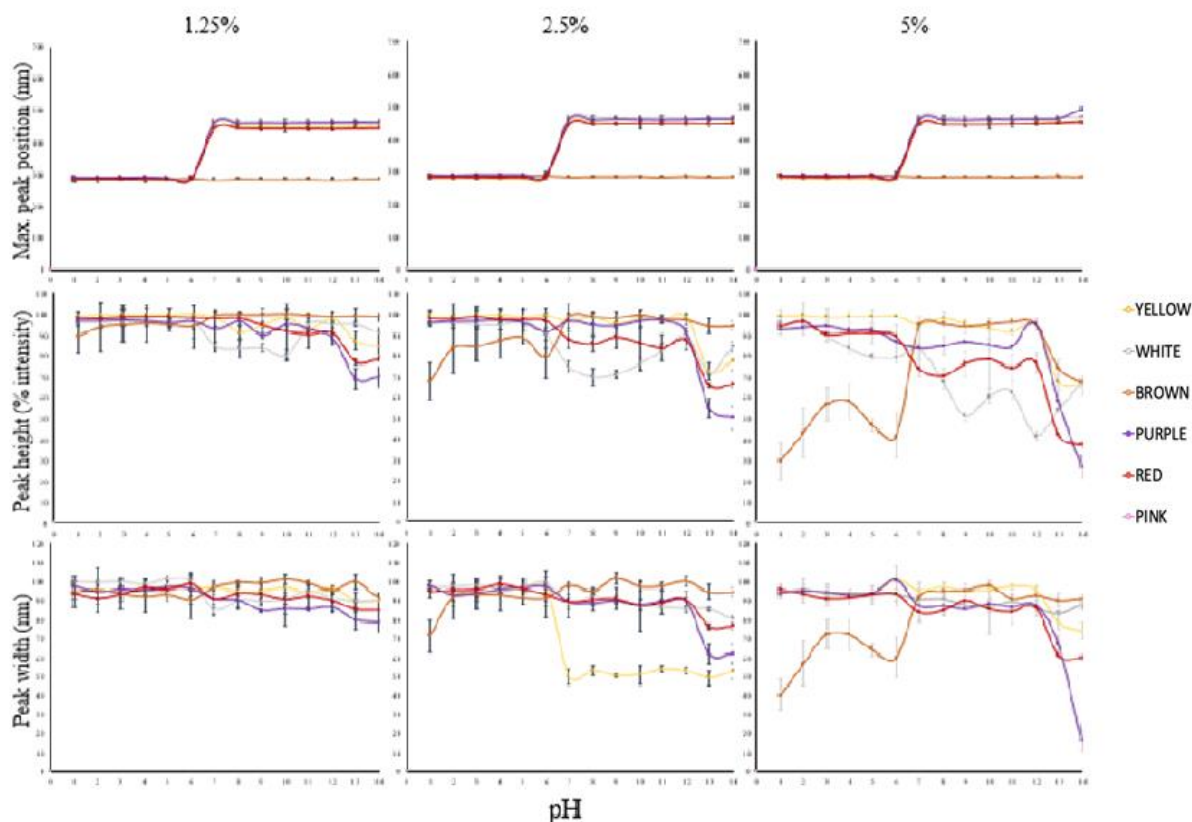


Figura 9. Zona de absorción azul de 420 a 490 nm para los pH 1-14.

Las características de estas moléculas mencionadas acompañadas de los cambios en la concentración de las diluciones del extracto fueron las responsables de que existiera un aumento o disminución en algunas gráficas dado que las moléculas aparecen o desaparecen en los rangos de absorción específicos para cada una de ellas.

7. Conclusión

Los resultados obtenidos en las titulaciones ácido-base nos llevan a concluir que los cambios en la absorción están dados en función de la concentración, ya que al estar separados por longitud de onda se puede caracterizar a las posibles moléculas responsables del viraje. Estas moléculas son flavonoides y antocianinas, además debido a su presencia se produjeron cambios en ambas titulaciones (ácido-base). De acuerdo a los resultados obtenidos en esta investigación, es beneficioso utilizar el extracto de la flor *Gerbera Jamesonii* como indicador natural de pH en futuras investigaciones.

8. Recomendaciones

- Es importante tener en cuenta que tanto las antocianinas como los flavonoides presentan perfiles de absorción específicos que pueden depender de factores como

el pH, la estructura química y el entorno molecular en el que se encuentren como se presentó en esta investigación.

- La extracción de los compuestos naturales de la flor *Gerbera jamesonii* también se puede realizar con etanol debido a que es un solvente polar, por lo que tiende a disolver las sustancias solubles en agua.
- Para la preparación de las curvas de titulación, de acuerdo con Shivaji y colaboradores (2014), el HNO₃ puede ser sustituido por HCl ya que no afecta la obtención de los resultados finales en ambas investigaciones.
- La concentración p/v del extracto de la flor *Gerbera Jamesonii* juega un papel importante dentro del viraje, por lo que se recomienda utilizar concentraciones específicas del 2.5% p/v o mayor para obtener resultados visuales más perceptibles.
- En caso de querer aislar los metabolitos naturales (flavonoides y antocianinas) del extracto de la flor *Gerbera Jamesonii*, se recomienda realizar una cromatografía de capa fina con *n*-Butanol: ácido acético glacial: agua (40:10:20), de acuerdo con Shivaji y colaboradores (2014)

9. Referencias bibliográficas.

Ballesteros, L., & Diaz, A. (2017). La antocianina como sustituto de los indicadores de PH sintéticos: un paso hacia los productos verdes (Doctoral dissertation, Universidad de la Costa).

Bastidas, V. N. Y., Hugo, R. M. O., Paguay, M. Á. S., & Choca, R. W. P. (2020). Construcción de un espectrómetro casero para el análisis de espectros de luz, mediante el software Spectral Workbench. Polo del Conocimiento: Revista científico-profesional, 5(7), 209-222.

Carrodegua, A., & Orozco, AZ. (2020). Bases para la mejora genética en *Gerbera hybrida*. Repertorio Científico, 23 (2), 51-62.

Castillo, O. V. (2020). Estudio de sustancias naturales como indicadores de pH: Propuesta didáctica. In Anales de la Real Sociedad Española de Química (No. 2, pp. 88-98). Real Sociedad Española de Química.

Castillo, S., & Ramírez, I. (2006). Ensayo preliminar para la obtención de colorantes naturales a partir de especies vegetales comestibles. San Salvador, El Salvador, 63-64.

Contreras, E., & Rojas, T. (2016). pH: Teoría y problemas (1.a ed.) [Libro electrónico]. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA. Recuperado 19 de julio de 2022, de <http://www.cua.uam.mx/pdfs/conoce/libroselec/17pHTeoriayproblemas.pdf>

Helmenstine, A. (2019). Indicador de pH. thoughtco. Recuperado 19 de julio de 2022, de <https://www.thoughtco.com/definition-of-ph-indicator-605499>

Khan, P. M. A., & Farooqui, M. (2011). Analytical Applications of Plant Extract as Natural pH Indicator: A Review. *Journal of advanced scientific research*, 2(4).

Maitra, S., Shankar, T., Sairam, M. y Pine, S. (2020). Evaluación de cultivares de gerbera (*Gerbera jamesonii* L.) para crecimiento, rendimiento y calidad de flores bajo cultivo protegido. *Revista india de ciencias naturales* , 10 (60), 20271-20276.

Matías, E. L. (2008). Caracterización fitoquímica y cuantificación por espectrofotometría UV de flavonoides totales en extractos de rizomas y frondas de *Polypodium triseriale*. Trabajo de graduación de Lic. Química Farmacéutica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

Miranda, PHS, dos Santos, AC, de Freitas, BCB, de Souza Martins, GA, Boas, EVDBV y Damiani, C. (2021). Una aproximación científica a los métodos de extracción y estabilidad de pigmentos de frutas amazónicas. *Tendencias en ciencia y tecnología de los alimentos* , 113 , 335-345.

Moreno, W. X. I., Logroño, J. P. A., & Brito, J. M. N. (2021). Técnicas espectroscópicas utilizadas para determinar la calidad del agua. *Polo del Conocimiento: Revista científico-profesional*, 6(9), 45-58.

Pourjavaher, S., Almasi, H., Meshkini, S., Pirsá, S. y Parandi, E. (2017). Desarrollo de un indicador de pH colorimétrico a base de nanofibras de celulosa bacteriana y extracto de col lombarda (*Brassica oleraceae*). *Polímeros de carbohidratos* , 156 , 193-201.

Rivera, P. E. B., Rebaza, G. A. F., Peñaloza, L. E. B., Martel, L. E. C., Rodríguez, M. X. C., Lorenzo, M. L. H., ... & Gallegos, B. M. Y. (2017). Determinación estructural de flavonoides en el extracto etanólico de cladodios de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Tuna Verde. *Revista Peruana de Medicina Integrativa*, 2(4), 835-840.

Shivaji, P. T., Rajaram, P. S., Singh, S., & Shyale, S. S. (2014) Acid-Base indicator property of Dye obtained from *Gerbera jamesonii* and *Tagetes erecta*.

10. Anexos

10.1. Actividades realizadas durante el proyecto

Las actividades mencionadas a continuación se han realizado 12 veces durante los meses de agosto del 2022 a enero del 2023.

- Se recolectaron, desecaron y trituraron muestras de *Gerbera jamesoni*.
- Se obtuvo el extracto de las muestras a partir de la infusión de las mismas.
- Se prepararon diluciones de pH con uso de HNO₃, NaOH y H₂O.
- Uso y manejo del potenciómetro para la obtención de las medidas de pH y ajuste de las mismas a las esperadas en el experimento.
- Preparación de diluciones del extracto en las concentraciones de 5, 2.5 y 1.25 % p/v.
- Centrifugación de las diluciones y alícuotas de los extractos.
- Preparación de alícuotas del extracto.
- Preparación de diluciones de HNO₃ y de NaOH junto con las diluciones del extracto.
- Interpretación visual del viraje de color en las reacciones.
- Homogeneización de las diluciones de HNO₃ y extracto.
- Toma de muestras de las diluciones de HNO₃ y extracto para ser colocadas en microplacas de 96 pozos.
- Lectura de la absorbancia de las muestras en el lector BioTek Elx800.
- Lectura en el espectrofotómetro de luz visible de Open source.
- Manipulación y cuantificación de las imágenes en el software SpectralWorkbench y SpectraGryph 1.2.
- Elaboración de una base de datos para la recolección de los resultados de todos los experimentos.
- Interpretación de los resultados en base a los valores arrojados.
- Elaboración de los diferentes reportes experimentales por prueba.
- Elaboración de la bitácora de cada uno de los experimentos.
- Entrega de reportes finales por experimento realizado.

10.2. Actividades académicas

10.2.1. Seminarios hospitalarios

- Seminarios de actualización en el área de Planeación, enseñanza e investigación del Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca.

10.2.2. Informes experimentales:

- Informes de parámetros estadísticos por pruebas.
- Informes cuantitativos de gráficos por experimento.

10.2.3. Cursos tomados:

- Control de calidad en hematología: Un ligero desvío en la ruta de la rutina aprendida.
- Anticuerpos: Conoce y elige el adecuado para tu investigación.
- Barreras de Seguridad en el Traslado Intrahospitalario.
- Control de calidad en inmunohematología controlando la incompatibilidad.
- Diagnóstico integral de la infección por SARS CoV-2 desde PCR hasta la detección de anticuerpos.
- Herramientas para el desarrollo de ensayos de qPCR múltiple.
- Importancia de la cuantificación en la edición genómica.
- Investigación y desarrollo en la obtención de productos biotecnológicos.
- Más allá de la cuantificación aplicaciones especiales de la PCR Tiempo real.
- Técnicas accesorias en inmunohematología - Adsorción.
- Uso Correcto del Equipo de Protección Personal COVID 19.
- Control de calidad en pruebas moleculares: Controlando la innovación.
- HIV: evolución de las pruebas serológicas.

11. Metas alcanzadas

- Limpieza e higiene en el laboratorio de investigación.
- Refuerzo de los conocimientos para la obtención de productos naturales.
- Mejora de las técnicas aplicadas al uso y manejo correcto de reactivos en la experimentación.
- Comprensión de las lecturas de absorbancia con el uso del espectrofotómetro.
- Análisis y elaboración de bases de datos estadísticos.
- Interpretación de herramientas para el desarrollo de ensayos de qPCR múltiple