



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

APORTE QUÍMICO ANALÍTICO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA
CALIDAD DE EXTRACTOS DE MANZANILLA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO

PRESENTA:

LUIS EDUARDO JACINTO FRANCISCO



CDMX

2021



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Eugenio Octavio Reyes Salas
VOCAL: Luis Alejandro Díaz Flores
SECRETARIO: Selena Gutiérrez Flores
1er. SUPLENTE: Juan Rolando Vázquez Miranda
2° SUPLENTE: Tania Rojo Portillo

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LABORATORIO 114 DE LA UNIDAD DE ESTUDIOS DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE QUÍMICA DE LA UNAM.

ASESOR DEL TEMA:

EUGENIO OCTAVIO REYES SALAS

SUPERVISOR TÉCNICO:

GERARDO REYES GARCÍA

SUSTENTANTE (S):

LUIS EDUARDO JACINTO FRANCISCO

ÍNDICE

1. Introducción	i
2. Antecedentes	3
2.1. La manzanilla	4
2.2 Manzanilla en México	7
2.3. Compuestos presentes en la manzanilla.....	8
2.4. Azulenos presentes en los extractos de manzanilla	9
2.4.1. Azuleno.....	10
2.4.2. Camazuleno.....	11
2.4.3. Guaiazuleno	12
3. Objetivos	13
4. Hipótesis.....	14
5. Metodologías.....	15
5.1. Estudio fundamental del guaiazuleno	15
5.1.1. Espectrofotometría.....	15
5.1.2. Análisis por voltamperometría	16
5.2. Extracción de la flor	17
5.2.1 Maceración	17
5.2.2. Extracción por Soxhlet.....	18
5.2.3. Extracción asistida con ultrasonido	19
5.2.4. Hidrodestilación.....	20

5.3. Estudio sobre los extractos	21
5.3.1. Espectro de los extractos en el visible	21
5.3.2. Titulación ácido-base por retroceso	21
5.3.3. Reacción de Fehling	22
5.4. Cuantificación de guaiazuleno en los extractos	23
6. Resultados y análisis	24
6.1. Estudio fundamental del guaiazuleno	24
6.1.1. Espectrofotometría en el visible	24
6.1.2. Voltamperometría	26
6.2. Estudio del extracto	30
6.2.1. Espectro de extractos en el visible	30
6.2.2. Reacción de Fehling	34
6.2.2. Titulación ácido-base por retroceso	31
6.3. Cuantificación de guaiazuleno en extractos	35
7. Conclusiones	39
Referencias.	40

Anexos

Anexo I-Modelos matemáticos	I
Anexo II-Ejemplos de cálculo	VII
Anexo III-Principio de la voltamperometría	XII
Anexo IV-Voltamperometría	XV
Anexo V-Formación de complejos	XVII

1. Introducción

La supervivencia de los seres humanos ha dependido en gran medida de aprender a aprovechar los recursos del entorno. Se cree que la humanidad se ha visto en la necesidad de recurrir a los recursos naturales para tratar distintos malestares ya desde la época en donde la recolección y la caza eran actividades prioritarias para nuestra supervivencia (*Cortez Gallardo V., et al. 2004*).

Al expandirse el conocimiento sobre los efectos de estos recursos naturales surgió la necesidad de documentarlos. En la actualidad a la ciencia encargada de realizar la documentación sobre estos efectos y el posterior uso de esta información se le conoce como farmacognosia (*Cortez Gallardo V., et.al. 2004*); una disciplina que ha tomado fuerza en los últimos años, debido principalmente a la costumbre en países con un mayor grado de desarrollo por contar con alternativas a los medicamentos sintéticos (*Mavolo L. 2015*).

Los remedios naturales de origen vegetal son los más populares por la gran variedad de especies y sus efectos en el ser humano (*Cortez Gallardo V., et. al. 2004*), (*Jiménez Silva A. A., 2017*). Con el fin de aprovechar las propiedades curativas de estas especies se han desarrollado varios métodos que, además, permiten realizar un estudio más detallado de los compuestos que le otorgan esa propiedad a la planta (*Campos Sáenz D., 2004*).

Entre las plantas más conocidas por su efecto terapéutico se encuentra la manzanilla (*matricaria chamomilla*), contando con una gran documentación. La popularidad de la manzanilla se debe en parte a su versatilidad, ya que su uso no se limita a la industria farmacéutica, también se utiliza en la industria alimentaria y la cosmética. En la actualidad hay una gran cantidad de productos que la utilizan como base (*Escobar M. y Josefa F.K., 2008*).

Al gozar de una gran popularidad, un conocimiento más completo acerca de la calidad de la manzanilla resulta de vital importancia. Pese a que la manzanilla sigue siendo estudiada en la actualidad, la mayoría de estos trabajos presentan un enfoque diferente al propuesto en este trabajo, como el efecto de sus extractos sobre otros productos, su uso en el tratamiento de diferentes enfermedades, cómo afecta en el crecimiento de bacterias u hongos o en el desarrollo de productos con fines terapéuticos.

En este trabajo se estudió uno de los compuestos de la manzanilla que influye en sus propiedades terapéuticas, el guaiazuleno, con métodos electroquímicos, enfoque que no se ha explorado a profundidad para el estudio de esta planta.

2. Antecedentes.

El uso de productos naturales en distintos tratamientos por parte del ser humano es una práctica muy antigua, y gracias a ello se ha observado una gran variedad de resultados. Se sabe que la propiedad curativa de una especie puede deberse a uno o varios compuestos presentes en ella, conocidos como principios activos; los que presentan algún potencial terapéutico son sometidos a pruebas rigurosas y largas con el fin de estudiar las propiedades del principio activo, sus posibles efectos secundarios y las vías de administración adecuadas (*Cortez Gallardo V., et al., 2004*).

La medicina tradicional aprovecha el conocimiento sobre las plantas en el ser humano para tratar diferentes enfermedades (*Jiménez Silva A.A., 2017*). Actualmente se siguen utilizando estos recursos, tanto en remedios tradicionales como para estudios científicos, esto para aislar algún compuesto con propiedades curativas, o bien, para el diseño de medicamentos cuya base sea una fuente natural.

Las fuentes vegetales son las de uso más extendido por la población general debido a las tradiciones y costumbres; también influye que se tenga un mayor acceso a ellos que a muchos medicamentos de origen sintético (*Campos Sáenz D., 2004*). Por otro lado, está la creencia de que los productos naturales, especialmente los de origen vegetal, son completamente seguros (*Campos Sáenz D., 2004*).

Los compuestos estudiados por su potencial terapéutico, por lo general, son metabolitos secundarios, que aun sin ser indispensables en el desarrollo de la planta en un sentido metabólico, sí resultan importantes para su supervivencia, ya que determinan la forma en que se relacionan con su entorno; por lo que si una planta es cultivada en condiciones no adecuadas existe la posibilidad que haya una pérdida parcial o ,inclusive, total de sus efectos curativos.

2.1. La manzanilla

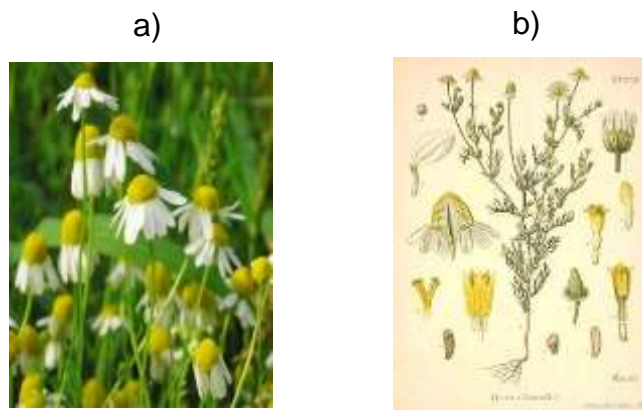


Figura 1. Flor de manzanilla.

La manzanilla (*Matricaria chamomilla*) es una planta proveniente de la familia de las margaritas, de un olor frutal agradable y característico. Es originaria de Europa y de Asia. Se tienen registros de sus propiedades medicinales desde la Grecia clásica en algunos escritos de Hipócrates (*Review de Thorne Research Inc. 2008*).

Su tallo es delgado con una altura de 10 cm a 80 cm, sus hojas son ramificadas y tiene raíces finas; sus flores pueden medir entre 1 cm y 1.5 cm, su centro tiene forma cónica y es de color amarillo; sus pétalos son color blanco y cada flor puede tener entre 12 y 30 pétalos.

Puede crecer en tierras medianamente fértiles (*Escobar M. y Josefa F.K. 2008; L. Mavolo 2015*). Se adapta a diferentes climas, creciendo principalmente en climas secos, semisecos y cálidos (*Escobar M. y Josefa F.K. 2008*); pero también en climas fríos (*Mavolo L. 2015*); es capaz de desarrollarse en suelos con pocos nutrientes, lo que la hace fácil de cultivar, y también posible encontrarla en cualquier parte en estado silvestre.

Aunque originaria de Europa, la manzanilla fue extendiéndose a lo largo del mundo, siendo actualmente cultivada y consumida en todo el planeta. Los principales productores de la manzanilla son China, Egipto y Argentina, mientras que los principales consumidores son Estados Unidos, Alemania e Italia (*Mavolo L., 2015*).

La manzanilla tiene propiedades antiinflamatorias, antipiréticas y antibacteriales. Se usa para estimular al aparato gastrointestinal, para tratar malestares estomacales y gastrointestinales como la diarrea, el dolor estomacal, los cólicos y las úlceras. También, es usada contra los problemas de insomnio, como tranquilizante suave, para curar heridas leves, la conjuntivitis, prevenir infecciones y limpiar las fosas nasales (*Review de Thorne Research Inc, 2008*).

Los estudios de la manzanilla abordan temas como el efecto de la flor en la prevención de los dolores de la artritis (*H. Ghavimi. et. al., 2012*). El desarrollo de un colutorio de manzanilla, después de comprobar su propiedad antibacterial contra las bacterias *Streptococcus* y *Staphylococcus* (*Cárcamo V., et al., 2011*). la influencia del aceite esencial en el crecimiento del hongo *Aspergillus niger* (*Tolouee M., et al., 2010*). Su efecto tranquilizante en pacientes de 60 años con problemas de insomnio, quienes demostraron una mejoría en su calidad de sueño (*H.M. Adib. y M.S. Nesa, 2017*).

La FDA (*“Food and Drug Administration”*) le ha dado a la manzanilla la clasificación GRAS (*Generally Regarded as Safe*) debido a su toxicidad prácticamente nula. Aun así, la manzanilla puede presentar efectos adversos en personas muy sensibles o alérgicas a las plantas de la familia de las margaritas. También, puede ser peligrosa si se combina con medicamentos o calmantes. Se recomienda evitar su uso excesivo en mujeres embarazadas, especialmente durante las primeras semanas, pues puede relajar el útero; esta capacidad puede ser aprovechada para facilitar el parto.

En Europa la manzanilla ha ganado popularidad gracias a la creciente demanda por fármacos de origen natural por sobre medicamentos de origen sintético.

2.2 Manzanilla en México

La manzanilla fue introducida a México por los españoles durante la colonia, desde entonces ha formado parte de la medicina tradicional del país. Aunque las principales plantaciones del país en cuanto al valor de producción se refiere destacan el maíz con un valor de producción de 104,861, 749 miles de pesos, la caña de azúcar con un valor de 44,074,843 miles de pesos, el aguacate con un valor 41,908,121 miles de pesos, o el jitomate con un valor de 31,150,517 miles de pesos en comparación de la manzanilla con 17,069 miles de pesos (SIAP, 2018), la manzanilla sigue siendo una plantación importante.

En México los mayores productores de manzanilla son el Estado de México, Morelos, San Luis Potosí, Jalisco y Puebla; de ellos, el Estado de México es el mayor productor nacional (De la Rosa T., 2016).

La manzanilla no solo se usa con fines terapéuticos, también tiene uso en industrias como la cosmética o la alimenticia; fue entre los años 1934 y 1936 que se introdujo el uso de la manzanilla en infusiones en bolsa como bebida “gourmet” (Escobar M. y Josefa F.K. 2008). También forma parte de varios productos industrializados, como se muestra en la Figura 2.



Figura 2. Ejemplos de productos industrializados de manzanilla.

Pese a los usos de la manzanilla, aun hoy, no hay un consenso que dicte un criterio de la calidad para sus extractos que pueda ser aplicado a la flor nacional, ya que se tienen como referencia las farmacopeas extranjeras, donde el criterio es que la cantidad de aceite esencial en las flores, el cual debe estar entre 0.2% y 2.0% en masa.

En México la norma de referencia es la NMX-F-293-1982, “Alimentos para humanos- Manzanilla para infusiones”, la cual menciona las especificaciones con las que debe contar el producto final, mas no acerca de las flores. Un problema es que las flores mexicanas y las flores europeas crecen en condiciones diferentes, sus técnicas de cosecha y las épocas de recolección también son diferentes, por lo que es posible que su composición pueda ser lo suficientemente diferente para aplicar los criterios de la farmacopea.

2.3. Compuestos químicos presentes en la manzanilla

En diversas fuentes se menciona que la manzanilla tiene al menos 120 compuestos activos, algunos de estos listados en la tabla 1.

Tabla 1. Componentes presentes en la manzanilla

α-bisabolol	óxidos de α -bisabolol (A y B)
<i>trans</i>-en-in-dicicloeter	matricina
azuleno	óxido de bisabolone
(E)- beta-farneseno	(E)-nerolidol
Espatúlenol	Sabineno
Acetato de metilo	Guaiazuleno
(E)-beta-Ocimeno	γ -terpineno
(E,E)-farnesol	(Z,Z)-farnesol

Los extractos de manzanilla pueden ser almacenados durante un tiempo de 6 meses a 2 años, manteniendo sus propiedades (*Ghavimi H., et al., 2012*).

2.4. Azulenos presentes en los extractos de manzanilla

Inicialmente a los extractos de color azul se les llamaba azulenos, independientemente de la fuente (*Gordon M., 1951; Matsubara Y., 1994*). Con el tiempo, se identificaron los componentes causantes del color azul de los extractos, a los que se les dio el nombre de azulenos (*Matsubara Y., 1994*). Actualmente se da ese nombre a la familia de compuestos orgánicos derivados del azuleno, cuyo núcleo consta de 2 anillos unidos entre sí, uno de 5 carbonos y otro de 7 carbonos (Figura 3).

Estos compuestos son de color azul, propiedad que los ha vuelto muy atractivos ya que es un color inusual para compuestos con estructuras simples. Poseen propiedades terapéuticas y sus usos son principalmente tópicos y terapéuticos siendo antiinflamatorio y antioxidante.

2.4.1. Azuleno

El azuleno (Figura 3) es el más estudiado de los azulenos. Es un isómero del naftaleno ($C_{10}H_{10}$). Es un sólido de color azul intenso, tiene un punto de fusión de $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ y un momento dipolar significativo. Se reporta un potencial de oxidación de $+0.88\text{ V}$, vs ECS (Kurihara T. et. al., 1996).

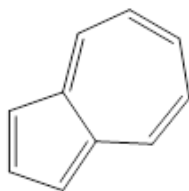


Figura 3. Azuleno.

El azuleno se ha usado con fines terapéuticos También tiene uso en otras industrias como en la cosmética y los productos para el cuidado personal. En la actualidad se ha investigado su uso para el desarrollo de distintos materiales, como lo son sensores de cationes, cristales líquidos o materiales para celdas solares (Hanshen X. y Xike G., 2017).

2.4.2. Camazuleno

El camazuleno (Figura 4) es un derivado del azuleno con mayor presencia en los extractos de manzanilla, y cuyo precursor es la matricina.

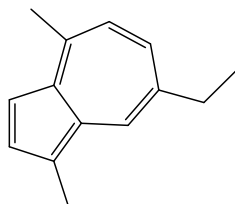


Figura 4. Camazuleno.

Al tratarse de un compuesto con un punto de fusión bajo ($P_f = 28\text{ }^{\circ}\text{C}$), puede ser descrito como un sólido o como un líquido, dependiendo de las condiciones en las que se almacena o se determina

2.4.3. Guaiazuleno

El guaiazuleno (Figura 5) tiene un punto de fusión es de $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ con un potencial de oxidación de $+0.65\text{ V vs ECS}$ (Kurihara T. et al., 1996). Se usa en tratamientos tópicos por su propiedad antiinflamatoria, mientras que la sal de sulfato se usa para tratar tumores y en tratamiento contra el cáncer (Matsubara y Yamamoto, 1994). Se ha recopilado una gran cantidad de productos de oxidación que han sido descritos para el guaiazuleno (Matsubara y Yamamoto, 1994).

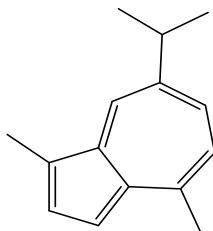


Figura 5. Guaiazuleno.

3. Objetivos

Objetivo general

Sentar las bases químico analíticas para el desarrollo de un método que permita usar el contenido de guaiazuleno en extractos de flor de manzanilla como un criterio de calidad.

Objetivos particulares

1. Estudiar el comportamiento químico y electroquímico del guaiazuleno.
2. Determinar la cantidad de guaiazuleno que puede ser obtenida a partir de la extracción de una cantidad conocida de flor de manzanilla.
3. Aprovechar el comportamiento electroquímico del guaiazuleno para desarrollar una metodología que permita determinar la calidad de extractos de manzanilla con base en su contenido de guaiazuleno.
4. Comparar las diferencias en la calidad de los extractos obtenidos a partir de los diferentes métodos de extracción.

4. Hipótesis

- Es posible desarrollar un método para determinar la concentración de guaiazuleno en los extractos de manzanilla utilizando sus propiedades electroquímicas.
- Los extractos de manzanilla se supondrán de mejor calidad cuanto mayor sea su contenido de guaiazuleno, esto debido a que el guaiazuleno influye en las propiedades antiinflamatorias y antimicrobianas.
- La calidad del extracto de manzanilla podrá relacionarse con la calidad de la flor utilizada siempre y cuando se conozca el método de obtención.

5. Metodologías

5.1. Estudio fundamental del guaiazuleno

5.1.1. Espectrofotometría en el visible

Para las pruebas por espectrofotometría se utilizó un espectrofotómetro de sonda con una lámpara punto de luz, y un paso óptico de 2 cm de la marca Metrohm, modelo 662 (Figura 6).



Figura 6. Espectrofotómetro de sonda Metrohm, modelo 662.

El espectro de absorbancia del guaiazuleno en el intervalo de longitudes de onda (λ) de 400 nm a 700 nm fue determinado con una disolución de guaiazuleno 2.0×10^{-3} mol/L en etanol/agua (80:20 v/v), esta mezcla que fue usada como blanco.

Para ello, se midió la absorbancia (A) de la disolución de guaiazuleno a diferentes valores de longitud de onda (λ), en el intervalo de 400 nm hasta los 700 nm.

En el espectro de absorbancia del guaiazuleno la longitud de onda de máxima absorbancia (λ_{\max}) se observa a 600 nm. Se construyó una curva de calibración para el guaiazuleno.

La curva de calibración fue construida midiendo la absorbancia de 5 disoluciones de guaiazuleno de concentraciones: 2.85×10^{-4} mol/L, 4.46×10^{-4} mol/L, 9.52×10^{-4} mol/L, 1.904×10^{-3} mol/L y 2.38×10^{-3} mol/L; con una mezcla de etanol/agua (80:20 v/v) como blanco, y graficando la absorbancia promedio de cada disolución en función de la concentración de guaiazuleno.

Con las curvas de calibración se calcularon la absortividad molar (ϵ) los límites de detección (LDD) y de cuantificación (LDC) del método (Anexo I).

5.1.2. Análisis por voltamperometría

Para la mediciones por voltamperometría se utilizó un potenciostato computrace de la marca Metrohm, modelo 797 (Figura 7).



Figura 7. Metrohm modelo 797 VA computrace.

En celda se usaron 20.0 mL de una disolución de nitrato de litio 0.3 mol/L, en etanol/agua (80:20 v/v) como electrolito soporte; un electrodo de disco giratorio de oro con una velocidad de 1200 rpm, un electrodo de referencia $\text{Ag}^0/\text{AgCl}/\text{KCl}$ (3 mol/L) y un electrodo auxiliar de platino.

Se construyeron 2 curvas de calibración para el guaiazuleno, para la voltamperometría clásica y para la voltamperometría de impulsos de onda cuadrada.

Para las curvas de calibración del guaiazuleno se añadieron volúmenes de una disolución de guaiazuleno de 9.46×10^{-3} mol/L en etanol/agua (80:20 v/v), con cada adición se trazaron los voltamperogramas para cada técnica; con una velocidad de barrido de potenciales de 5 mV/s, y un barrido de potenciales desde -0.3 V a +1.2 V.

5.2. Extracción de la flor

La flor de manzanilla utilizada en este trabajo se compró en la central de abastos de la CDMX. Esta flor se mantuvo al aire libre para secarla, en un sistema que le permitió estar en contacto con el aire, y protegida de la luz del sol así como de la lluvia.

La manzanilla seca fue triturada en un molino de café de la marca Taurus, modelo “aromatic” con capacidad para 50 g.

5.2.1 Maceración

Una masa de flor triturada entre 5 y 10 g (por ejemplo, de 6.7290 g), se remojó en 100.00 mL de una mezcla de etanol/agua (70:30 v/v) durante 15 días. Luego de los 15 días se recuperó el extracto por filtración a vacío. Posteriormente, se recuperó el etanol por destilación y luego se concentró el extracto llevando a un volumen aproximado de 15 mL. Los sólidos presentes en el extracto concentrado fueron separados por centrifugación y filtración a vacío.

Debido a los indicios de la presencia de guaiazuleno en el extracto por maceración, se hizo una segunda maceración con una masa de 2.5 kg de flor triturada, la cual fue sumergida en 8.0 L en etanol/agua (7:3 v/v) durante una semana. El líquido fue filtrado y almacenado sin ningún tratamiento posterior.

5.2.2. Extracción por Soxhlet

Una masa de 10.4863 g de flor de manzanilla (seca y triturada) se colocó en el Soxhlet dentro de un cartucho de algodón (Figura 8), se adicionaron 100 mL de una mezcla de etanol/agua (7:3) como disolvente, el cual se mantuvo circulando por el sistema durante 14 reflujos.

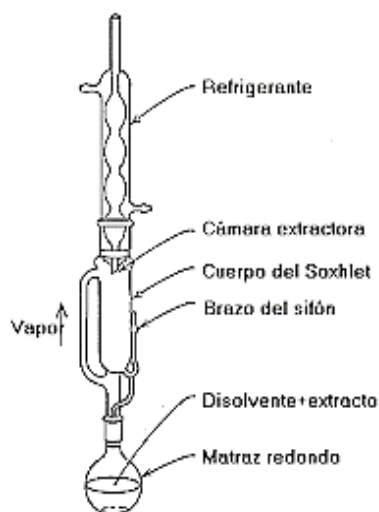


Figura 8. Diagrama del equipo para la extracción por Soxhlet.

Después de la extracción se enfrió el matraz. Se destiló para recuperar el etanol y el extracto acuoso fue llevado a un volumen aproximado de 15 mL, por calentamiento. Los sólidos del extracto concentrado se separaron por centrifugación y filtración a vacío. Posteriormente, se realizaron extracciones líquido-líquido ($n=3$), usando 10 mL de *n*-hexano, se juntaron las fracciones orgánicas.

El sólido se disolvió usando etanol y se llevó a un volumen de 10 mL para la cuantificación de guaiazuleno.

5.2.3. Extracción asistida por ultrasonido

Una masa de 4.5149 g de flor seca y triturada junto con 100 mL de una mezcla de etanol/agua (7:3 v/v) se pusieron en un matraz Erlenmeyer, el cual se sumergió en un baño ultrasónico de la marca “Digital pro+”, con una frecuencia de 40 kHz (Figura 9) por 4 ciclos de 30 minutos cada uno, esto sin la alteración de la temperatura del sistema.



Figura 9. Baño de ultrasonido “Digital pro +” de 3 L con una frecuencia de 40 kHz.

El extracto se filtró a vacío y se llevó a un volumen de aproximadamente 5 mL, por calentamiento, añadiendo posteriormente 5 mL de agua desionizada. Luego, se llevó a cabo una extracción líquido-líquido ($n=3$) con 10 mL de *n*-hexano. Las partes en *n*-hexano se almacenaron en un frasco.

Se realizó una segunda extracción por ultrasonido. Esta vez con una masa de flor triturada de 5.0572 g, junto con 100 mL etanol/agua (70:30), se sumergió en el baño, y se mantuvo por dos horas. El extracto se filtró a vacío y fue almacenado sin realizar algún tratamiento posterior.

5.2.4. Hidrodestilación

Una masa de 80.8122 g de flor triturada fue sometida a destilación usando 1.20 L de agua desionizada en un sistema como el mostrado en la (Figura 10-a), en este caso en un matraz bola, con 3 bocas, de 3 L. El aceite esencial se obtuvo usando 5 mL de tolueno, mismo que fue colocado en la trampa (Figura 10-b) (añadiendo previamente 5mL de agua desionizada de forma que el tolueno no se fragmente en ambos lados del tubo recolector).

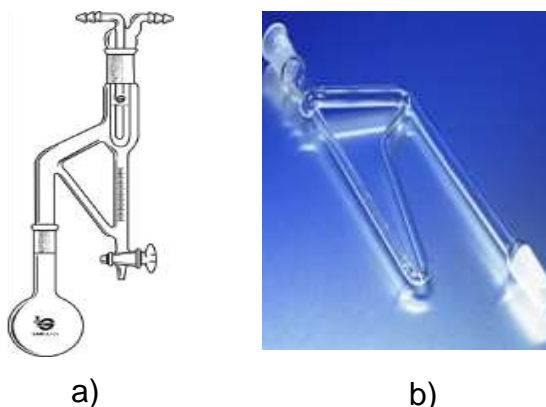


Figura 10. Equipo utilizado para la destilación, usando un matraz de 3000 mL de tres bocas y sustituyendo la trampa con la mostrada en la derecha.

La destilación se mantuvo con agitación constante por 6h. Se recuperó el aceite usando un embudo de separación y se mantuvo en un desecador a vacío para eliminar el disolvente del aceite esencial. El porcentaje en masa del aceite recuperado con respecto a la masa de la flor usada para la destilación fue de 0.27 %.

5.3. Estudio de los extractos

Con el fin de observar algunas propiedades de los extractos, se realizaron algunas pruebas de caracterización, como la obtención de los espectros de absorción en el visible y una titulación ácido-base por retroceso,

5.3.1. Espectro de absorbancia de los extractos en el visible

Se midió la absorbancia de los extractos en el intervalo de λ de 400 nm a 700 nm para obtener su espectro de absorbancia. Con cada medición se ajustó la absorbancia del equipo a 0 con ayuda de un blanco.

5.3.2. Titulación ácido-base por retroceso

Para todas las mediciones de pH se utilizó el potenciómetro Metrohm pH meter modelo 713, en conjunto con un electrodo combinado de vidrio (Figura 11).



Figura 11. Potenciómetro Metrohm modelo 713 pH meter.

Se tomó una alícuota de 5 mL del extracto obtenido por ultrasonido y se realizó una titulación ácido-base, añadiendo un exceso de una disolución de hidróxido de sodio 3.99×10^{-2} mol/L (previamente valorada con biftalato de potasio), monitoreando el pH con cada adición de la base.

Posteriormente, se realizaron adiciones de una disolución de ácido clorhídrico 4.16×10^{-2} mol/L (previamente valorada con la disolución valorada con hidróxido de sodio). El pH fue monitoreado con cada adición del ácido.

Esta titulación ácido-base se realizó sólo al extracto ya que el guaiazuleno no posee propiedades ácido-base.

5.3.3. Reacción de Fehling

El contenido de azúcares reductores del extracto de la segunda maceración se determinó por retroceso, mediante el seguimiento potenciométrico de la reacción de Fehling, con una disolución de fructosa. La potenciometría se llevó a cabo usando un milivoltímetro analógico Tacussel (Figura 12).



Figura 12. Milivoltímetro analógico Tacussel, modelo 2G 8N.

Para el arreglo en la celda se usó un electrodo de trabajo de cobre y un electrodo de referencia de Ag/AgCl/KCl (3 mol/L).

El licor de Fehling fue preparado a partir de 5 mL de una disolución Fehling A (sulfato de cobre (II) 0.235 mol/L previamente estandarizada) y con 5 mL de una disolución de Fehling B (una disolución de tartrato de sodio y potasio usando como disolvente una disolución de hidróxido de sodio 1.2 mol/L).

Posteriormente, una disolución de fructosa 4.61×10^{-2} mol/L fue añadida al licor de Fehling, midiendo el potencial con el milivoltímetro, manteniendo el sistema a ebullición y con agitación constante.

El procedimiento anterior fue repetido usando las mismas disoluciones, esta vez 5 mL del extracto se añadieron a la celda junto con el licor de Fehling.

El contenido de azúcares reductores en el extracto se determinó a partir de la diferencia en la cantidad de fructosa requerida para reaccionar con el cobre del licor de Fehling.

5.4. Cuantificación de guaiazuleno en los extractos

Ya conocido el comportamiento de la señal de guaiazuleno, en las condiciones de la celda a las que se trabajó, fue posible comenzar a cuantificar el guaiazuleno en los extractos de manzanilla, adicionando alícuotas de 50 μ L de los extractos a la celda del potencióstato hasta observar la señal de guaiazuleno.

La celda electroquímica quedó constituida con 20 mL de nitrato de litio 0.3 mol/L, un electrodo giratorio de oro a 1200 rpm, un electrodo de referencia Ag/AgCl/KCl (3 mol/L) y un electrodo auxiliar de platino.

Para los extractos en los que se detectó la señal de guaiazuleno, se prosiguió con adiciones de una disolución de guaiazuleno de concentración conocida, trazando los voltamperogramas para cada adición, desde la barrera de reducción hasta la barrera de oxidación.

6. Análisis de Resultados.

6.1. Estudio fundamental del guaiazuleno

6.1.1. Espectrofotometría en el intervalo visible

El espectro de absorbancia del guaiazuleno, determinado a partir de una disolución de guaiazuleno 2.0×10^{-3} mol/L, en etanol/agua (80:20), se muestra en la Figura 13.

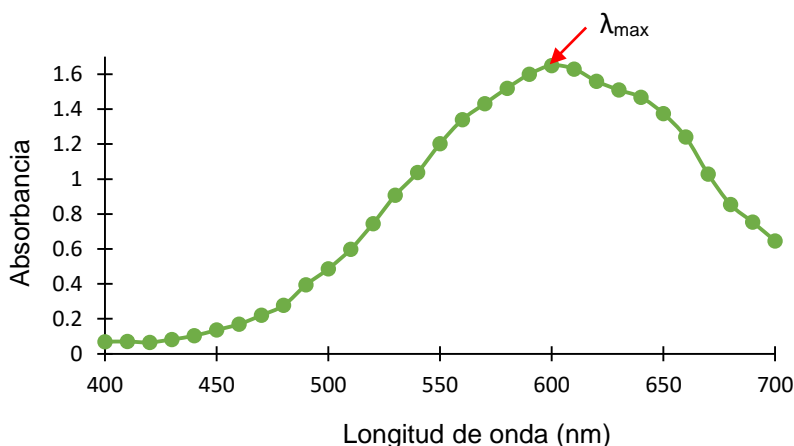


Figura 13. Espectro de absorbancia del guaiazuleno de 400 nm a 700 nm, con una mezcla de etanol/agua (80:20) como blanco.

En la Figura 13 se señala la λ_{\max} a 600 nm, punto que fue utilizado para construir la curva de calibración para el guaiazuleno. Esta curva fue construida a partir de mediciones de absorbancia, por triplicado, de 5 disoluciones de guaiazuleno de concentración diferente usando como blanco una mezcla de etanol/agua (80:20 v/v). En la Tabla 2 se presentan las absorbancias promedio, así como la desviación estándar, para cada disolución de guaiazuleno.

Tabla 2. Absorbancias promedio de las disoluciones de guaiazuleno utilizadas para la construcción de la curva de calibración por espectrofotometría.

[Guaiazuleno] _{celda} (mol/L)	Absorbancia (600 nm)
2.85×10^{-4}	$0.177 \pm 2.0 \times 10^{-3}$
4.76×10^{-4}	$0.377 \pm 5.8 \times 10^{-3}$
9.52×10^{-4}	$0.753 \pm 5.7 \times 10^{-3}$
1.90×10^{-3}	$1.51 \pm 0^*$
2.38×10^{-3}	$1.85 \pm 0^*$

* No se detectó variación de la absorbancia del guaiazuleno a la λ_{max} en ninguna de las mediciones.

Con los datos de la Tabla 2 se construyó la curva de calibración del guaiazuleno, mostrada en la Figura 14.

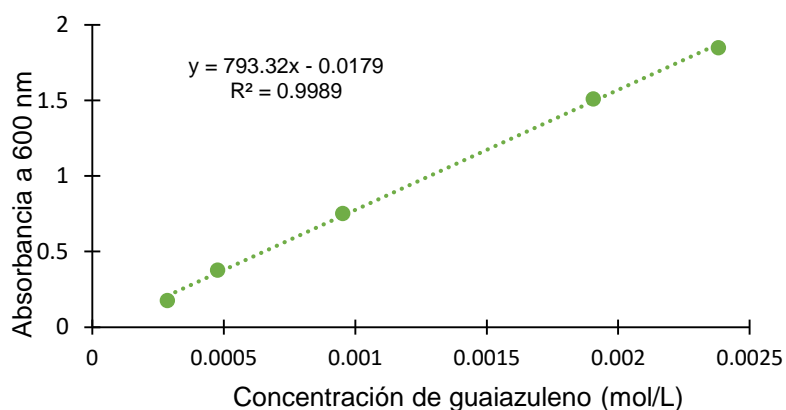


Figura 14. Curva de calibración del guaiazuleno para espectrofotometría a una λ de 600 nm.

La absortividad molar del guaiazuleno a 600 nm (${}^{600\text{nm}}\epsilon_{\text{guaiazuleno}}$) fue calculada con la ley de Bouguer -Lambert- Bernard -Beer, con la pendiente de la curva y la longitud del paso óptico de la sonda (2 cm), cuyo valor es de ${}^{600\text{nm}}\epsilon_{\text{guaiazuleno}} = 397 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Con la curva de calibración se calcularon los LDD (límite de detección) y LDC (límite de cuantificación) del guaiazuleno (Anexo I), los cuales fueron 1.04×10^{-4} mol/L (20.60 ppm) y 3.71×10^{-4} mol/L (73.65 ppm); respectivamente.

6.1.2. Voltamperometría

Al aplicar la voltamperometría lineal con el electrodo de disco giratorio de oro y con electrolito soporte seleccionado en medio etanol/agua se observó una señal de guaiazuleno. En la Figura 15 se muestran los voltamperogramas de la voltamperometría clásica, cortados en un intervalo de potenciales de +0.4 V a +1.2 V, para las adiciones de una disolución de guaiazuleno 9.46×10^{-3} mol/L; así como las concentraciones de guaiazuleno en la celda para cada adición.

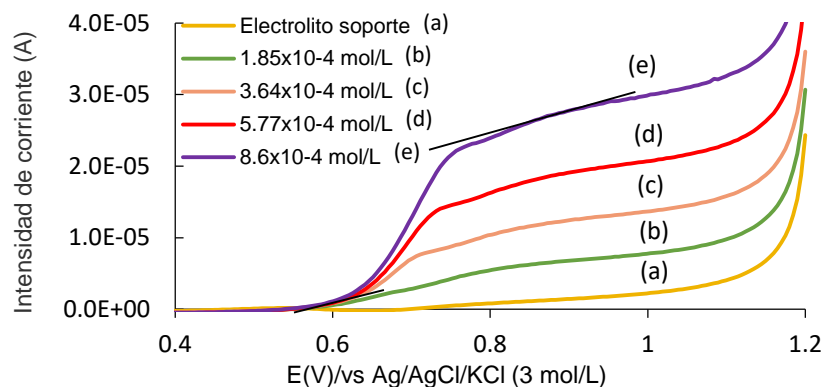


Figura 15. Voltamperometría clásica para las adiciones de guaiazuleno, con 20 mL de una disolución de nitrato de litio 0.3 mol/L en etanol/agua (80:20 v/v) como electrolito soporte, un electrodo de referencia Ag/AgCl/KCl (3 mol/L), un electrodo giratorio de oro y un electrodo auxiliar de platino, con una velocidad de barrido de 5 mV/s.

En la Figura 15 se observa que el potencial de media onda ($E_{1/2}$) del guaiazuleno en estas condiciones es +0.69 V. Se puede notar que las señales observadas son de oxidación, lo que confirma que el guaiazuleno se comporta como un agente reductor.

En la Tabla 3 se presentan las alturas de las señales para cada adición de guaiazuleno.

Tabla 3. Corriente límite de la señal de oxidación para cada concentración de guaiazuleno.

[Guaiazuleno] _{celda} (mol/L)	Volumen añadido (μL)	Intensidad de corriente (A)
9.37x10 ⁻⁵	200	1.78x10 ⁻⁶
1.85x10 ⁻⁴	400	5.56x10 ⁻⁶
2.76x10 ⁻⁴	600	7.26x10 ⁻⁶
3.64x10 ⁻⁴	800	1.01x10 ⁻⁵
4.50x10 ⁻⁴	1000	1.23x10 ⁻⁵
5.77x10 ⁻⁴	1300	1.63x10 ⁻⁵
7.01x10 ⁻⁴	1600	1.94x10 ⁻⁵
8.60x10 ⁻⁴	2000	2.41x10 ⁻⁵

En la Figura 16 se muestra la curva de calibración del guaiazuleno obtenida por voltamperometría clásica a partir de los datos de la Tabla 2.

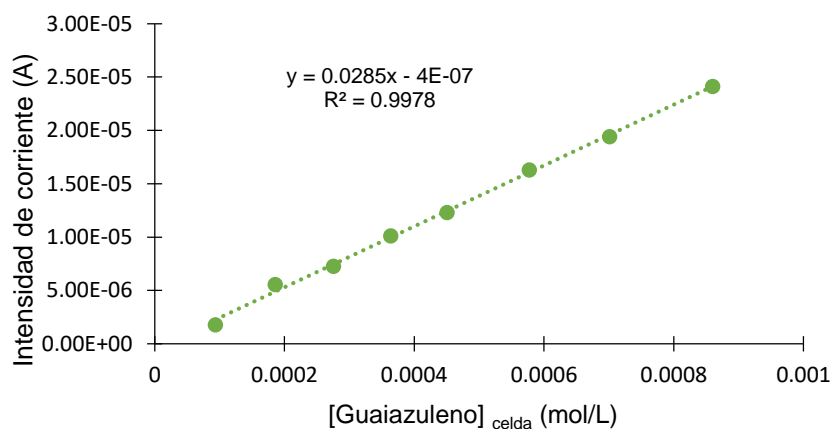


Figura 16. Curva patrón del guaiazuleno obtenida por voltamperometría clásica; la altura de la señal fue medida usando el software del equipo Metrohm.

Con la curva de calibración se calcularon los límites de detección y de cuantificación del guaiazuleno (Anexo I), que fueron de 5.45×10^{-5} mol/L (10.81 ppm) y 1.82×10^{-4} mol/L (36.09 ppm); respectivamente. Estos valores corresponden a las concentraciones del guaiazuleno en celda.

Los voltamperogramas de impulsos de onda cuadrada, acotados en un intervalo de potenciales de +0.4 V a +1.0 V, obtenidos para cada adición de una disolución de guaiazuleno 9.46×10^{-3} mol/L, así como la forma en la que se midió la altura de la señal se presentan en la figura 17. Se observa que el pico se encuentra en un potencial cercano a los +0.7 V, lo que es cercano a lo observado en la voltamperometría clásica.

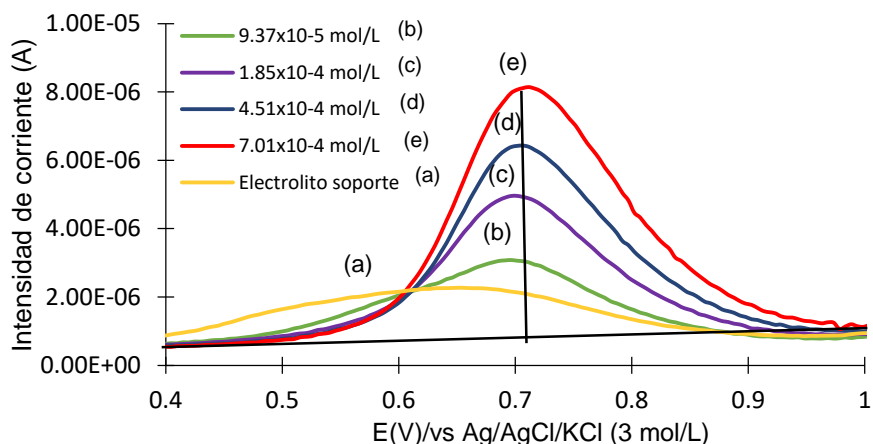


Figura 17. Voltamperometría de impulsos de onda cuadrada para las adiciones de guaiazuleno, con nitrato de litio 0.3 mol/L en etanol/agua (80:20), un electrodo giratorio de oro, un electrodo de referencia Ag/AgCl/KCl (3 mol/L), un electrodo auxiliar de platino y velocidad de barrido de 5 mv/s.

La altura de cada pico para las distintas adiciones de guaiazuleno se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Altura del pico para cada adición de guaiazuleno, utilizadas para la construcción de la curva patrón.

V(μ L)	[Guaiazuleno] _{celda} (molL ⁻¹)	Intensidad de corriente (A)
200	9.37X10 ⁻⁵	2.40x10 ⁻⁶
400	1.85x10 ⁻⁴	3.42x10 ⁻⁶
600	2.76x10 ⁻⁴	4.21x10 ⁻⁶
800	3.64x10 ⁻⁴	5.03x10 ⁻⁶
1000	4.50x10 ⁻⁴	5.65x10 ⁻⁶
1300	5.77x10 ⁻⁴	6.62x10 ⁻⁶
1600	7.01x10 ⁻⁴	7.32x10 ⁻⁶
2000	8.60x10 ⁻⁴	8.34x10 ⁻⁶

En la Figura 18 se muestra la curva de calibración del guaiazuleno por voltamperometría de impulsos de onda cuadrada, hecha con los datos de la Tabla 3.

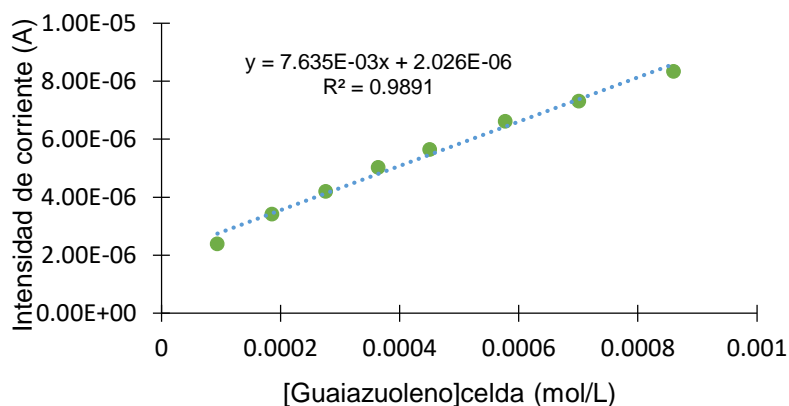


Figura 18. Curva de calibración del guaiazuleno para la voltamperometría de impulsos de onda cuadrada; la altura de pico fue medida usando el software del equipo Metrohm.

A partir de la curva de calibración se calcularon los límites de detección y de cuantificación del guaiazuleno, los cuales son, respectivamente, 8.93×10^{-5} mol/L (17.71 ppm) y 2.97×10^{-4} mol/L (59.09 ppm); que corresponden a concentraciones en celda. En la Tabla 5 se muestran los valores de LDD y de LDC para los métodos desarrollados

Tabla 5. Comparación de los límites de detección y de cuantificación del guaiazuleno.

Técnica	LDD (ppm)	LDC (ppm)
Espectrofotometría	20.60	73.65
Voltamperometría clásica	10.81	36.09
Voltamperometría de impulsos de onda cuadrada	17.71	59.09

Comparando los valores del LDD y LDC de todos los métodos de cuantificación utilizados, se observa que, para este caso, la voltamperometría clásica es el método más sensible para cuantificar el guaiazuleno.

6.2. Estudio del extracto de manzanilla

Los resultados de las pruebas realizadas para la caracterización de los extractos de manzanilla se presentan en esta sección.

6.2.1. Espectro de extractos en el visible

En la Figura 19 se presentan los espectros de absorción de los extractos obtenidos por maceración, el obtenido por Soxhlet acuoso y el obtenido por ultrasonido, los cuales presentaron indicios de contener guaiazuleno. Estos espectros fueron recortados en un intervalo de λ de 540 nm y 660 nm.

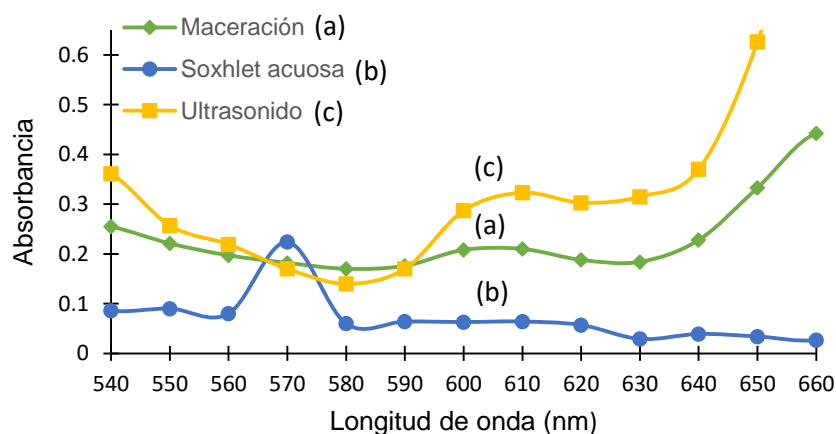


Figura 19. Espectros de absorbancia de extractos de manzanilla en el intervalo del visible; (a) Fase en etanol de la parte sólida del extracto por maceración, (b) Parte acuosa del extracto obtenido por Soxhlet, (c) Extracto obtenido por ultrasonido.

Todos los extractos excepto el obtenido por Soxhlet presentan absorbancia alrededor de una λ de 600 nm, aunque es poco notoria en el extracto de maceración.

En el extracto por ultrasonido se observan picos de absorbancia unidos. En caso de haber guaiazuleno se podrá realizar su cuantificación por voltamperometría.

6.2.2. Titulación ácido-base por retroceso

La primera parte de la titulación ácido-base por retroceso consistió en la adición de una disolución de hidróxido de sodio (previamente valorada) al extracto obtenido por ultrasonido, monitoreando el pH con cada adición de la base. En la Figura 20 se muestra la curva de titulación del extracto con la disolución de hidróxido de sodio.

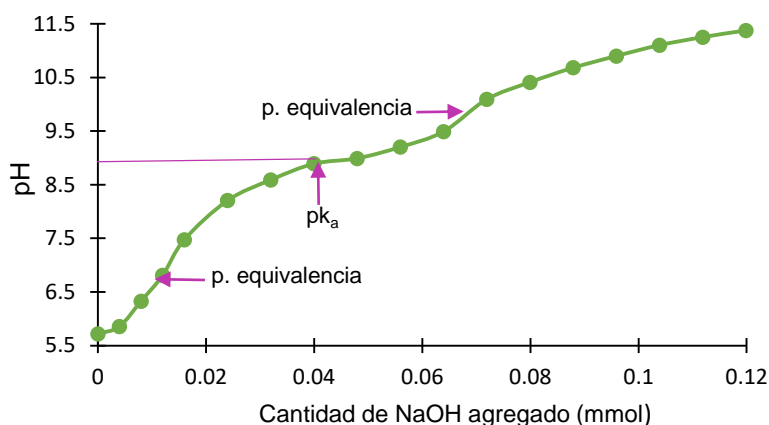


Figura 20. Curva de titulación del extracto de manzanilla obtenido con el baño de ultrasonido con una disolución de hidróxido de sodio 3.99×10^{-2} mol/L

En la curva de titulación de la Figura 20 se observan dos puntos de equivalencia, uno al agregar 1.40×10^{-5} mol y el otro al agregar 6.80×10^{-5} mol de hidróxido de sodio; la relación de protones valorados es de 4 a 1, lo que indica que provienen de dos fuentes diferentes. También es posible observar que el pKa del segundo protón es de 8.8.

La segunda parte de esta titulación consistió en la adición de una disolución ácido clorhídrico (previamente valorada), monitoreando el pH con cada adición.

En la Figura 21 se muestra la curva de titulación del extracto con ácido clorhídrico, en la cual se pueden observar dos puntos de equivalencia, uno al agregar 2.12×10^{-4} mol de ácido clorhídrico y el segundo al agregar en total 2.79×10^{-4} mol del ácido.

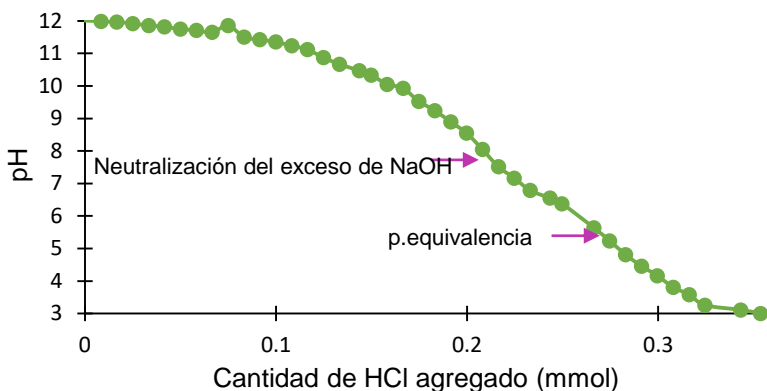


Figura 21. Curva de titulación con una disolución de ácido clorhídrico 4.16×10^{-2} mol/L del extracto obtenido con el baño de ultrasonido más el exceso de hidróxido de sodio.

El primer punto corresponde a la neutralización del exceso de hidróxido de sodio, mientras que el segundo punto corresponde a la neutralización de las bases resultantes de la titulación con hidróxido de sodio, esto se afirma ya que para este punto la cantidad utilizada de ácido clorhídrico y la de hidróxido de sodio son similares. En la titulación con hidróxido de sodio no se observan con claridad los puntos de equivalencia a diferencia de la titulación con el ácido clorhídrico, lo que puede deberse a un efecto de la dilución del medio, pues el volumen final es alrededor de 5 veces mayor que el volumen inicial.

6.2.2. Reacción de Fehling

El contenido de azúcares reductores del extracto obtenido por maceración fue calculado, siguiendo por potenciometría la reacción entre el licor de Fehling con una disolución de fructosa 4.61×10^{-2} mol/L.

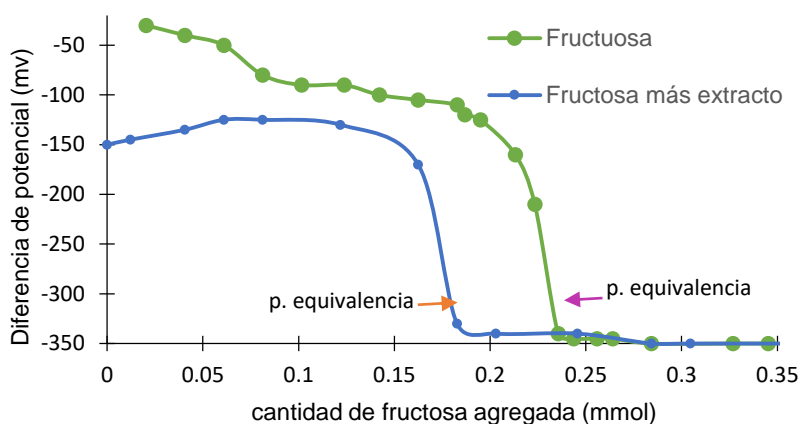


Figura 22. Curvas de titulación de la reacción de Fehling para la determinación de azúcares reductores en el extracto de manzanilla.

Con las curvas de titulación de la Figura 22 se calculó el contenido de azúcares reductores en el extracto de manzanilla a partir de la diferencia en la cantidad de fructosa utilizada en ambos puntos de equivalencia.

El contenido de azúcares reductores en este extracto fue calculado a partir de esta diferencia de fructosa en el punto final con un valor de 1.10×10^{-2} mol/L. Suponiendo que estos azúcares fuesen glucosa y fructosa exclusivamente, esto representaría un porcentaje en promedio de azúcares de 0.63 % en masa para la flor utilizada en esta extracción; el cálculo se presenta en los Anexos I y II.

6.3. Cuantificación de guaiazuleno en extractos

Una vez establecidas las condiciones en celda para la cuantificación de guaiazuleno, se trabajó con los extractos de manzanilla obtenidos con anterioridad, con el fin de cuantificar el guaiazuleno en estos extractos y el rendimiento de guaiazuleno a partir de la flor.

En la tabla 6 se presentan los extractos cuyo contenido de guaiazuleno pudo determinarse; así mismo se presentan los voltamperogramas de las adiciones estándar de guaiazuleno con los que fue posible realizar dicha determinación.

Tabla 6. Extractos presentados en esta sección.

Extracto	Descripción
1	Fase líquida de la extracción por Soxhlet luego de ser tratada con hexano, con un tiempo de almacenamiento de 11 meses.
2	Extracto de manzanilla obtenido por soxhlet, siendo la parte sólida disuelta en etanol y llevada a un volumen de 10 mL.

En la Figura 23 se muestran los voltamperogramas para la adición del estándar de guaiazuleno al extracto 1.

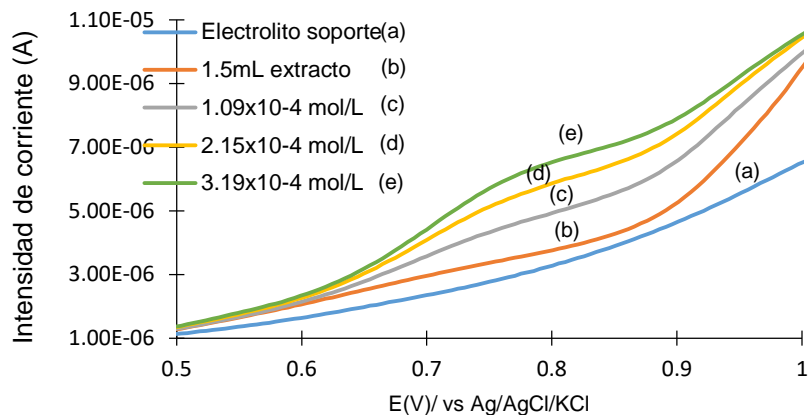


Figura 23. Voltamperometría clásica para las adiciones de una disolución de guaiazuleno 9.46×10^{-3} mol/L al extracto de manzanilla en celda, con 20 mL de nitrato de litio 0.3 mol/L, un electrodo giratorio de oro, un electrodo de referencia Ag/AgCl/KCl (3 mol/L) y un electrodo auxiliar de platino, con una velocidad de barrido de 5 mV/s. Los voltamperogramas fueron recortados en un intervalo de +0.3 V a +1.0 V.

En la tabla 7 se muestran las corrientes límite para cada adición de estándar de guaiazuleno, la cual fue medida con ayuda del software del potenciostato.

Tabla 7. Corriente límite para las adiciones de una disolución de guaiazuleno al extracto 1.

V agregado (μ L)	[Guaiazuleno] _{celda} mol/L	Altura de la señal (A)
0	0*	5.51×10^{-7}
250	2.31×10^{-4}	1.35×10^{-6}
500	4.51×10^{-4}	2.14×10^{-6}
750	6.60×10^{-4}	2.68×10^{-6}

Con los valores de la Tabla 4 se construyó la gráfica de adiciones patrón, mostrado en la Figura 24. En esta gráfica se muestra la intersección con el eje “x”, que corresponde a la concentración de guaiazuleno en celda proveniente del extracto 1.

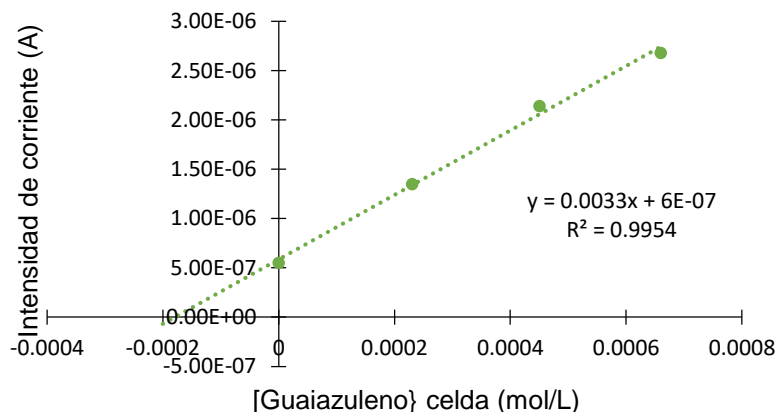


Figura 24. Gráfica de adición de estándar de guaiazuleno al extracto 1

En la figura 24 puede observarse que la recta interseca al eje x en un valor de concentración de 1.79×10^{-4} mol/L, el cual de luego de realizar los cálculos indicados en los anexos I y II corresponde a una concentración de guaiazuleno en el extracto de 2.57×10^{-3} mol/L (509.6 ppm).

Relacionando la concentración de guaiazuleno en extracto y la masa de flor de manzanilla utilizada fue calculada la cantidad de guaiazuleno en la flor de manzanilla la cual es de 3.67×10^{-6} mol/ g de flor (728.9 ppm), estos cálculos se presentan en los anexos I y II.

En la Figura 25 se muestran los voltamperogramas de la adición del estándar de guaiazuleno al extracto 2.

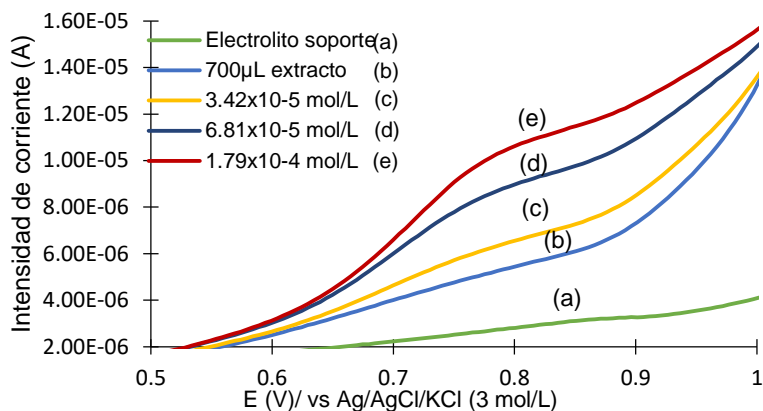


Figura 25. Voltamperometría clásica para la adición de una disolución de guaiazuleno 9.46×10^{-3} mol/L, recortados desde un potencial de 0.5 V a 1.0 V, con nitrato de litio 0.3 mol/L como electrolito soporte, un electrodo giratorio de oro, un electrodo de referencia Ag/AgCl/KCl (3 mol/L) y un electrodo auxiliar de platino, con una velocidad de barrido Para la medición de la altura de la señal se usó el software del equipo Metrohm. En la Tabla 8 se encuentran los resultados de estas mediciones.

Tabla 8. Corriente límite para cada adición del estándar de guaiazuleno al extracto 2.

V (μL)	[Guaiazuleno] _{celda} (mol/L)	Altura de la señal (A)
0	0*	6.19×10^{-7}
75	7.04×10^{-5}	1.38×10^{-6}
150	1.40×10^{-4}	2.31×10^{-6}
225	2.08×10^{-4}	2.97×10^{-6}
300	2.76×10^{-4}	3.58×10^{-6}
400	3.64×10^{-4}	4.25×10^{-6}

Con los datos de la tabla 5 se construyó la gráfica para la cuantificación de guaiazuleno en el extracto, mostrado en la figura 26.

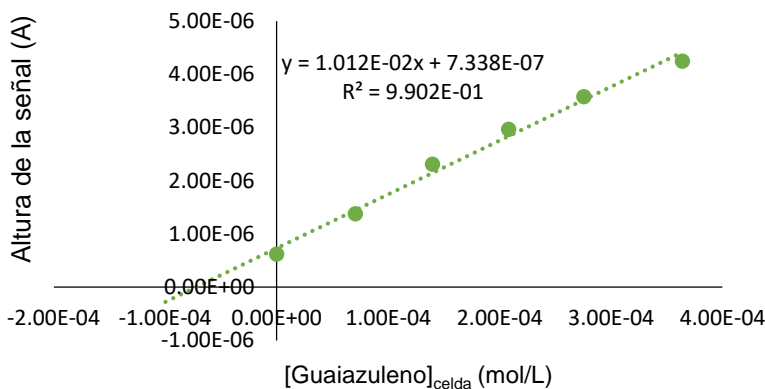


Figura 26. Gráfica de adiciones de estándar de guaiazuleno a un extracto de manzanilla.

En la Figura 26 se muestra la intersección de la recta con el eje x, lo que corresponde a una concentración de guaiazuleno en el extracto de 7.25×10^{-5} mol/L (14.4 ppm), lo que indica una concentración de guaiazuleno en el extracto de 2.14×10^{-3} mol/L (424.4 ppm). Al considerar la masa de la flor utilizada en un principio, la concentración de guaiazuleno en el extracto corresponde a una cantidad de 2.05×10^{-6} mol/g de flor (406.5 ppm).

7. Conclusiones

El estudio realizado ha permitido aprovechar el comportamiento químico y electroquímico del guaiazuleno para su cuantificación, lo que es posible tanto por espectrofotometría como por la señal característica de oxidación, observado a un potencial de +0.70 V (respecto a la referencia de plata-cloruro de plata).

La relación lineal entre el parámetro medido (absorción o intensidad de corriente) permite alcanzar límites de detección muy bajos (del orden de 10^{-5} mol/L, en celda).

Estas condiciones experimentales se emplearon para determinar el contenido de guaiazuleno en extractos de manzanilla.

Aunque el guaiazuleno no es el azuleno mayoritario, hay posibilidad de utilizarlo para estimar la calidad de extractos de manzanilla, y de la flor misma.

Las pruebas de cuantificación de guaiazuleno fueron realizadas usando un extracto con un largo tiempo de almacenamiento, por lo que habría que realizar pruebas usando extracto fresco o con un tiempo de almacenamiento menor.

Los resultados obtenidos indican que la extracción asistida por ultrasonido es la que permite obtener la mayor cantidad de guaiazuleno; en segundo lugar, se encuentra la extracción por maceración.

Referencias.

Adib H.M., Nesa M.S. (2017) "*The Effects of Chamomile Extract on Sleep Quality among Elderly People: A Clinical Trial*" *Complementary Therapies in Medicine* 35, 109-114.

Campos Sáenz D. (2004)" *Medicamentos, plantas medicinales u productos de origen natural*", *Fármacos* 2003, Vol.16, Núm.1y2.

Capuzzo A., Occhipinti A., Maffei, M.E. (2014) "*Antioxidant and Radical Scavenging Activities of Chamazulene*" *Rev. Natural product research* Vol.28, Num. 24, pp. 2321-2323 DOI: 10.1080/14786419.2014.931393

Cortez Gallardo V., Rodríguez Landa J.F. (2004)" *Farmacognosia: Breve historia de sus orígenes y su relación con las ciencias médicas*" *Rev. Biomed*, Vol. 15, pp. 123-136.

Cárcamo V., Oliva P., González P. (2011), "*Efectividad antimicrobiana del colutorio de Matricaria Recutita en funcionarios de la facultad de odontología de la Universidad del Desarrollo, Chile*", *Int. J. Odontostomat*, Vol.5, Núm.2, pp. 179-184

De la Rosa T. (2016), "*Té de manzanilla, ganancia de 'coyotes'*", *Economíahoy.com* México, recuperado de la página

<https://www.economiahoy.mx/economiahoy/opinion/noticias/7393300/03/16/Te-de-manzanilla-en-Mexico-ganancia-de-coyotes.html>

Escobar M. Josefa F. K (2008) "*La manzanilla: una forma de consumo global*" *Rev.Ciencias Sociales de la universidad Iberoamericana*, Vol 3 Núm 6, pp 37-57

Ghavimi H., Shayanfor A., Hamedeyazdan S., Shiva A., Gorjoans A., "Chamomile: an Ancient Plant Remedy and a Modern Gout Relief" *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* Vol 6, 2012, DOI: 10.5897/AJPP10.197.

Gordon M. (1951) "*The Azulenes*" Imperial Colleges of Science and Technology, London S.W.7, England.

Guzelmeric E., Vovk I., Yesilada E. (2014) "*Development and Validation of an HPLC Method for Apigenin 7-O-glucoside in Chamomille Flower and its Application for Fingerprint Discrimination of Chamomille-Like Materials*" *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 107, pp.108-118.

Jiménez Silva A.A. (2017) "*Medicina tradicional*" Boletín CONAMED-OPS.

Kurihara T. *et al.* (1996) "*Electronic Structures and Oxidation Potentials of Some Azulenes Derivatives*" *Bull.Chem.Soc.* Num.69, 2003-2008.

Mavolo L. (2015) "*Elaboración y exportación de manzanilla industrial*" Universidad Tecnológica Nacional, proyecto final.

Matsubara Y., Yamamoto H., Nozoe T (1994) "*Oxidation Products of Guaiazulene and Other Azulenic Hydrocarbons*" *Studies in Natural Products Chemistry*, Vol. 14

McKay D.L., Blumberg J.B. (2006) "*A review of the Bioactivity and Potential Health Benefits of Chamomile Tea (Matricaria Recutita L.)*" *Phytotherapy Research* 20, (519-530) DOI: 10.1002/ptr.1900

Orav Anne., Raal A., Arak E. “*Content and Composition of Essential of Chamomilla recutita (L.) Rauschert from some European Countries*”, natural product research 2010, Vol. 24. DOI: 10.1080/14786410802560690

Sáenz Campos D (2004). “*Medicamentos, plantas medicinales y productos naturales*”
Fármacos 2003, col16 n 1 y 2.

Saied Homomi S., Jaimand K, Bagher Razaee M, Afzalzadeh R.,(2016) “*Comparative Studies of Different Extraction Methods of Essential Oil from Matricaria Recutita L. in Iran*” J.Chil.chem.soc 61 Num2,

SIAP “*Anuario estadístico de la producción Agrícola (2018)*”, Gobierno de la ciudad de México, encontrado en la liga <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>

Stewart Birrell K. (1933) “*Crystalline Guaiazulene*” Otago University, Chemistry department

Tandon S.,Ahmad J. Ahmad A. (2013)”*GC-MS Analysis of the Steam and Hydrodistilled Essential Oil of Matricaria Recutita L. Flower of North East Region of India*” Asian Journal of Chemistry V.25, N.11 6048-6050
<http://dx.doi.org/10.14233/ajchem.2013.14252>

Thorne Research Inc. (2008), “*Matricaria chamomilla (German Chamomille)*”,
Alternative Medicine Review, volumen 13, Natural 1.

Tolouee M., Alinezhad S., Saberi R., Estamifar A., Zad S.J., Jaimond K., Ghahfarokhi M.S., Abyaneh M.R., “*Effect of Matricaria Chamomilla L. Flavor essential oil on the Growth of Ultrastructure of Arperegillus Nyes Ven Theghem*”, International Journal of food Microbiology, 2010, Vol. 139, pp127-137. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.03.032

Whang M. *et al.*, “*Classification of Chamomile Flowers, Essential Oils and Commercial Products Using Chemometrics and de Agilent 5975 GC/MSD*” Agilent Technologies.

Xin H., GAO X. (2017) “*Application of Azulene in Constructig Organic Optoelectronic Materials: New Tricks for an Old Dog*” Chem plus Chem minireviews, 82, 945-956, DOI: 10.1002/cplu.201700039

Referencias de figuras

Figura 1 a): Dumat M.(2018) (“*German chamomille*” para la página Annie’s annuals & perennials, encontrada en <https://www.anniesannuals.com/plants/view/?id=4136>

Figura 1 b): Köhler F. E.(1887) “ *Matricaria recutita*”, originalmente en el “*Köhler’s Medizinal-Pflazen*” encontrada en https://es.wikipedia.org/wiki/Matricaria_recutita#/media/Archivo:Matricaria_recutita_-_K%C3%B6hler%E2%80%93s_Medizinal-Pflanzen-091.jpg

Figura 2 a):Risitos de Oro ® “*Pasta de Lassar Risitos de oro* ®” imagen encontrada en el catalogo IBUSHAK, en la liga <https://www.ibushak.com/products/pasta-de-lassar-rosaduras-ricitos-de-oro-grisi-60-g>

Figura 2 b):GRISI ® “*Shampoo GRISI* ® *Linea Manzanilla Gold*” catalogo de Walmart, imagen encontrada en <http://vikki-rapunzel.blogspot.com/2013/11/manzanilla-grisi-gold-shampoo.html>

Figura 2 c) : Naturfar ® (2019) “*Colutorio de extracto de Manzanilla*” imagen encontrada en <https://www.naturallight.com.co/producto/extracto-de-manzanilla/>

Figura 2 d): McCormik “*Té de manzanilla McCormik 25 sobres*” imagen encontrada en https://articulo.mercadolibre.com.mx/MLM-747400472-caja-de-te-de-manzanilla-mccormick-con-24-paquetes-de-25-sob-JM?quantity=1#position=4&type=item&tracking_id=9f82a63b-67ff-4118-9e6d-090fd13524e7

Figuras 3, 4 y 5. Imagenes generadas por el programa ChemDraw

Figura 6: Metrohm “*Espectrofotómetro de sonda Metrohm modelo 662*”, imagen encontrada en <https://cromatografiadeions.com.br/es-mx/productos-general/26620010>

Figura 7: Metrohm “*Computrace VA modelo 797*” imagen encontrada en <https://www.metrohm.com/es/productos/27970010>

Figura 8: Autor anonimo “*Equipo de extracción Soxhlet*” imagen encontrada en <http://studypointblog.blogspot.com/2015/09/determination-of-total-fat-content-by.html>

Figura 9: Botique “*Bote limpiador ultrasónico Digital, 3L Limpiador sónico Temporizador de baño de limpieza de Tanques inoxidable*” Imagen encontrada en <https://www.amazon.es/Boquite-Limpiador-ultras%C3%B3nico-Temporizador-inoxidables/dp/B082V971Q5>

Figura 10 a): Wilmad-LabGlass “*Volatile Oil (LTW) Clevenger Trap 5 mL*” imagen encontrada en <https://www.wilmad-labglass.com/Products/LG-6655-102/>

Figura 10 b): Reactivos y equipos S.A. de C. V., “*Trampa destilación aceites 24/40 3582-5*” Imagen encontrada en <http://www.reactivosyequipos.com.mx/producto/trampa-destilacion-aceites-2440-3582-5/1222>

Figura 11: Laurabuhq “*Automat Equipment from Metrohm near Estonia ...*” imagen encontrada en <http://laurabuhq.dns04.com/ph-meter-metrohm-691-manual.html>

Anexo I. Modelos matemáticos

Absortividad del guaiazuleno en su longitud de onda de absorbancia máxima.

Para determinar la absortividad del guaiazuleno en su λ_{\max} , en este caso 600 nm (${}^{600\text{nm}}\epsilon$) fue utilizada la ley de Lambert-Beer, cuya expresión se presenta en la Ecuación 1.

$$A = \epsilon * l * c$$

Ecuación 1. Ley de Lambert-Beer.

Dónde:

- A es la absorbancia de la disolución o compuesto.
- ϵ es el coeficiente de absortividad del compuesto.
- l es la longitud del paso de la luz a lo largo de la disolución, en cm.
- c es la concentración molar del compuesto en disolución.

Es posible relacionar la Ecuación 1 con la curva de calibración para el guaiazuleno, puesto que esta tiene una expresión del tipo $y=mx+b$, en este caso para el cálculo de ${}^{600\text{nm}}\epsilon$ se usará la Ecuación 2.

$$\epsilon^{600\text{ nm}} = \frac{m}{l}$$

Ecuación 2. Determinación del coeficiente de absortividad del guaiazuleno en la λ de absorbancia máxima.

Siendo m la pendiente de la recta obtenida en la construcción de la curva de calibración de la Figura 14.

Determinación del límite de detección (LDD) y el límite de cuantificación (LDC)

El cálculo de los límites de detección y de cuantificación fue calculado a partir de las curvas de calibración obtenidas para los métodos de cuantificación utilizados para el guaiazuleno. El cálculo de estos límites fue realizado a partir de las Ecuaciones 3 y 4.

$$LDD = \frac{3 * S_y}{m}$$

Ecuación 3. Límite de detección.

$$LC = \frac{10 * S_y}{m}$$

Ecuación 4. Límite de Cuantificación.

Dónde:

- LDD es el límite de detección.
- LDC es el límite de cuantificación.
- S_y es la desviación estándar de la ecuación de la recta.
- m es la pendiente de la recta en la curva patrón del guaiazuleno

La expresión para el cálculo de la desviación estándar de la curva de calibración se muestra en la Ecuación 5

$$S_y = \sqrt{\frac{\sum (y_{exp} - y_{cal})^2}{n - 2}}$$

Ecuación 5. Desviación estándar de la curva de calibración.

Donde:

- y_{exp} es la respuesta del equipo obtenida durante el experimento.
- y_{cal} es la respuesta del equipo calculada a partir de la expresión de la curva de calibración, en este caso, del guaiazuleno.
- n es el número de mediciones realizadas para construir la curva de calibración.

Reacción de Fehling

Se sabe que en la reacción de Fehling la estequiometría entre la glucosa o la fructosa y el ión Cu (II) es 1:5, por lo que el potencial de equivalencia de las curvas de titulación se tomó de acuerdo con el modelo matemático de la ecuación 6, donde la cantidad de fructosa a la equivalencia es correspondiente a este potencial.

$$Pe_{eq} = \text{Potencial final} - \frac{(\text{Potencial final} + \text{Potencial inicial})}{6}$$

Ecuación 6. Determinación del punto de equivalencia en la titulación de Fehling.

Para la determinación de la cantidad de azúcares reductores en la flor se realizó de la siguiente forma.

Primero se calculó la cantidad de azúcares reductores en el extracto de acuerdo a la ecuación 7.

$$[\text{Azúcares reductores}] = \left(\frac{\text{mol}_{eq}^1 - \text{mol}_{eq}^0}{v_{alic}} \right)$$

Ecuación 7. Determinación de azúcares reductores en el extracto

Dónde:

- mol_{eq}^1 es la cantidad de fructosa al punto de equivalencia para la reacción de Fehling que involucran el extracto de manzanilla.
- mol_{eq}^0 es la cantidad de fructosa al punto de equivalencia para la reacción de Fehling en ausencia de extracto de manzanilla.
- V_{alic} es el volumen de la alícuota de extracto de manzanilla utilizada para la reacción de Fehling.

Posteriormente, la determinación de azúcares reductores en la flor se calcula de acuerdo con el modelo matemático mostrado en la Ecuación 8.

$$\% \text{ de azúcares reductores en flor} = mm_{fructosa} \frac{[fructosa] * v_{extracto}}{m_{flor}} * 100\%$$

Ecuación 8. Determinación de azúcares reductores promedio en la flor de manzanilla.

Dónde:

- $[fructosa]$ es la concentración de fructosa calculada con anterioridad.
- $V_{extracto}$ es el volumen total de extracto obtenido.
- m_{flor} es la masa de la flor usada para la extracción.

De esta forma se obtiene la cantidad de azúcares reductores, ya sea fructosa o glucosa, o que ambas se encuentren en cantidades mayoritarias.

Determinación de guaiazuleno en los extractos.

Para la determinación de guaiazuleno en la flor se usó la voltamperometría, junto con el método de adiciones patrón. Con el método de adiciones patrón se determina la concentración en celda del guaiazuleno proveniente del extracto. Con esa concentración en celda se calcula la concentración de guaiazuleno en el extracto usando el modelo matemático mostrado en la Ecuación 9.

$$[Guaiazuleno]_{extracto} = \frac{[Guaiazuleno]_{celda} * v_{celda}}{v_{extracto}}$$

Ecuación 9. Cálculo de la concentración de guaiazuleno en el extracto.

Donde

- $[Guaiazuleno]_{extracto}$ es la concentración de guaiazuleno en el extracto de manzanilla.
- $[Guaiazuleno]_{celda}$ es la concentración de guaiazuleno en la celda dada por el extracto.

- V_{celda} es el volumen del electrolito soporte más el volumen de extracto de manzanilla añadido a la celda.
- $V_{extracto}$ es el volumen del extracto de manzanilla agregado a la celda.

Conociendo la concentración de guaiazuleno en la flor de manzanilla se realiza con el siguiente modelo en la Ecuación 10

$$\text{Guaiazuleno en flor (ppm)} = \frac{[\text{Guaiazuleno}]_{\text{extracto}} * v_{\text{extracto}}}{m_{\text{flor}}} * mm_{\text{guaiazuleno}} * \frac{1 \times 10^{-6} \mu\text{g}}{1 \text{ g}}$$

Ecuación 10. Determinación de rendimiento de guaiazuleno en flor.

Donde:

- $V_{extracto}$ es el volumen del extracto de manzanilla preparado.
- m_{flor} es la masa de la flor utilizada para la extracción en g.
- *Guaiazuleno en flor (ppm)* es la cantidad de guaiazuleno que puede ser obtenido por unidad de masa.
- $mm_{\text{guaiazuleno}}$ es la masa molar del guaiazuleno en g/mol

Anexo II. Ejemplos de cálculo

Cálculo del coeficiente de absortividad molar del guaiazuleno a 600nm

Tomando la pendiente de la curva de calibración de la Figura 14, la Ecuación 1, y la longitud del paso de la luz de la sonda del espectrofotómetro utilizado, se realiza el siguiente cálculo con el cual se determinó que el coeficiente de absortividad del guaiazuleno a una λ de 600 nm es de $397 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$:

$$\epsilon^{600\text{nm}} = \frac{793.32 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}}{2.0 \text{ cm}} = 396.7 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$$

Ecuación 11 Cálculo del coeficiente de absortividad molar del guaiazuleno a 600 nm.

Cálculo del límite de detección (LDD) y el límite de cuantificación (LDC)

Se tomará como ejemplo la curva de calibración del guaiazuleno para la voltamperometría diferencial de impulsos. De las Ecuaciones 3 y 4 se requiere conocer el valor de S_y , cuya expresión se da en la Ecuación 5. Para poder calcular este valor se toman los valores de la Tabla 9.

Tabla 9. Datos para el cálculo de la desviación estándar de la curva de calibración.

Intensidad (A)	Intensidad calculada (A)	(I_{experimental}-I_{calculada})²
2.40x10 ⁻⁶	2.74115x10 ⁻⁶	1.1638x10 ⁻¹³
3.42x10 ⁻⁶	3.44228x10 ⁻⁶	4.9629x10 ⁻¹⁶
4.21x10 ⁻⁶	4.12979x10 ⁻⁶	6.4335x10 ⁻¹⁵
5.03x10 ⁻⁶	4.80408x10 ⁻⁶	5.1039x10 ⁻¹⁴
5.65x10 ⁻⁶	5.46553x10 ⁻⁶	3.4029x10 ⁻¹⁴
6.62x10 ⁻⁶	6.43441x10 ⁻⁶	3.4442x10 ⁻¹⁴
7.32x10 ⁻⁶	7.37638x10 ⁻⁶	3.1789x10 ⁻¹⁵
8.34x10 ⁻⁶	8.59238x10 ⁻⁶	6.3695x10 ⁻¹⁴
	Suma	3.0969x10 ⁻¹³

Sustituyendo en la ecuación 5 se obtiene el siguiente cálculo:

$$S_y = \sqrt{\frac{3.0969 \times 10^{-13}}{6}} = 2.2718 \times 10^{-7}$$

Ecuación 12. Cálculo de la desviación estándar de la curva de calibración del guaiazuleno de la Figura 18.

Sustituyendo este valor en las Ecuaciones 3 y 4, respectivamente, se obtienen los siguientes cálculos en la ecuación 13.

$$LDD = \frac{3 * 2.2718 \times 10^{-7}}{7.635 \times 10^{-3}} = 8.93 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$$

$$LDC = \frac{10 * 2.2718 \times 10^{-7}}{7.635 \times 10^{-3}} = 2.97 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$$

Ecuación 13. Cálculos del límite de detección y el límite de cuantificación de la curva patrón de guaiazuleno de la voltamperometría diferencial de impulsos.

Siendo este mismo proceso aplicado a las curvas patrón del guaiazuleno presentadas en este trabajo.

Cambio de unidades en la concentración a ppm del guaiazuleno.

Para este cálculo se tomó como ppm las unidades mg/L, por lo que se transformó la concentración molar del guaiazuleno con la masa molar de guaiazuleno como se muestra en la ecuación 14.

mol/L -----> ppm

$$\frac{1 \text{ mol}}{L} = \left(\frac{198.3 \text{ g}}{1L}\right) * \left(\frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}}\right) = 1.983 \times 10^5 \text{ mg/L}$$

Ecuación 14. Ejemplo para el cambio de la concentración molar de guaiazuleno a concentración en ppm.

Con esta operación se realizaron los cálculos de la concentración en ppm del guaiazuleno en disolución.

Reacción de Fehling

El cálculo del punto de equivalencia en la reacción de Fehling se realizó de acuerdo a la ecuación 15, para cada curva de titulación

$$pe_{eq} = -350 \text{ mv} - \frac{1 * (-350 \text{ mv} - (-130 \text{ mV}))}{6} = -313.3 \text{ mv}$$

Ecuación 15. Ejemplo de cálculo del potencial de equivalencia en la titulación de Fehling.

Para cada curva de titulación se determinó la cantidad de fructosa gastada en el punto de equivalencia, la diferencia entre estos valores corresponde a la cantidad de azúcares reductores en el extracto de manzanilla añadido al licor de Fehling; este cálculo se muestra en la ecuación 16.

$$[\text{Azúcares reductores}] = \left(\frac{0.23 \text{ mmol} - 0.175 \text{ mmol}}{5 \text{ mL}}\right) = 0.011 \text{ mmol/mL}$$

Ecuación 16. Cálculo de la concentración de azúcares reductores en el extracto de manzanilla.

Conocida la concentración de azúcares reductores fue posible calcular la cantidad de azúcares reductores en la flor de manzanilla, para ello fue necesario el volumen de extracto preparado y la masa de la flor de manzanilla con la que se trabajó. Este cálculo se presenta en la ecuación 17.

$$\% \text{ azúcares reductores en flor} = 180.16 \frac{g}{mol} * \left(\frac{0.011 \frac{mol}{L} * 8.0 L}{2500 g} \right) * 100 \% = 0.63\%$$

Ecuación 17. Cálculo de la cantidad de azúcares reductores en la flor de manzanilla.

Determinación de guaiazuleno en los extractos

Para la determinación de guaiazuleno en los extractos de manzanilla se trabajó con la concentración indicada en la extrapolación de la recta de adiciones estándar a su intersección con el eje de la concentración de guaiazuleno, en el extracto 1 esta intersección está en una concentración con un valor absoluto de $1.79 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$, el cálculo de concentración de guaiazuleno se muestra en la ecuación:

$$[\text{Guaiazuleno}]_{\text{extracto}} = \frac{1.79 \times 10^{-4} \frac{mol}{L} * 21.5 \text{ mL}}{1.5 \text{ mL}} = 2.57 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$$

Ecuación 18. Ejemplo de cálculo de la concentración de guaiazuleno en el extracto de manzanilla.

Con el valor de la concentración de guaiazuleno en el extracto de manzanilla conocida se pudo relacionar con la masa de la flor utilizada, para este extracto el cálculo realizado se muestra en la ecuación 19:

$$\text{Guaiazuleno en flor (ppm)} = 198.3 \frac{\text{g}}{\text{mol}} * \left(\frac{2.57 \times 10^{-3} \text{ mol/L} * 0.015 \text{ L}}{10.4863 \text{ g}} \right) \left(\frac{1 \times 10^{-6} \mu\text{g}}{1 \text{ g}} \right) = 728.9 \text{ ppm}$$

Ecuación 19. Ejemplo de cálculo del rendimiento en la extracción de guaiazuleno por gramo de flor.

Este procedimiento se realizó en los extractos en los que fue posible cuantificar el guaiazuleno.

Anexo III. Principio de la voltamperometría

La voltamperometría es un conjunto de técnicas de análisis electroquímico basado en la medición de la corriente eléctrica generada por una celda electroquímica a un potencial aplicado. Para ello se trabaja en un sistema con 3 electrodos sumergidos en una disolución del analito y una sal inerte, ésta última presente en una proporción mucho mayor a la del analito; la sal inerte es el electrolito soporte. Estos electrodos son un electrodo de trabajo, cuyo potencial es variable a lo largo del procedimiento además de ser el lugar en el que ocurren las reacciones redox, un electrodo de referencia cuyo potencial es conocido y se mantiene constante; y un electrodo auxiliar, que es en el que se conduce la corriente eléctrica.

La forma en la que se varia el potencial con respecto al tiempo dará lugar a diferentes técnicas, desde aquellas en las que se varía el potencial de forma lineal o en la que se varia en forma de escalones, técnicas conocidas como voltamperometría de barrido lineal y voltamperometría de impulsos de onda cuadrada, respectivamente, como se muestra en la Figura 27, aunque no son las únicas técnicas voltamperométricas.

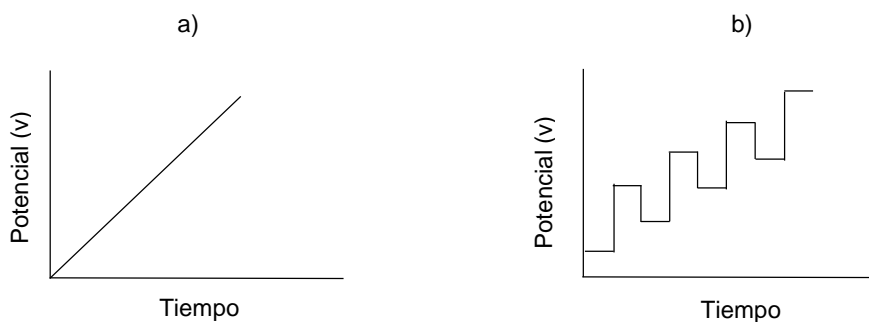
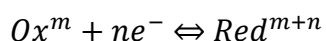


Figura 27. Variación del potencial en función del tiempo, a) voltamperometría de barrido lineal, b) voltamperometría de onda cuadrada. Existen otras técnicas voltamperométricas.

Cuando el analito se ve afectado por estas diferencias de potencial sufre un cambio el cual puede ser una reacción de oxidación o de reducción, de acuerdo con la ecuación 20.



Ecuación 20. Reacción de redox escrito en sentido de la reducción.

En la voltamperometría lineal cuando el analito sufre una transformación como la mostrada en la Ecuación 20 (aunque también se da en el sentido contrario) se observa una señal en forma sigmoideal, como se muestra en la Figura 28

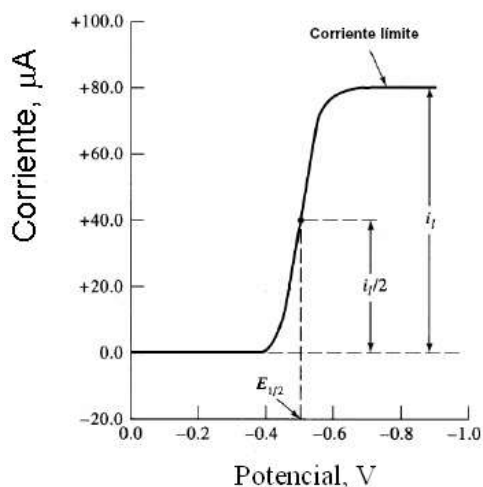


Figura 28. Señal de oxidación de un compuesto en la voltamperometría de barrido lineal, se marcan dos parámetros importantes para la identificación y cuantificación de un compuesto: el potencial de onda media ($E_{1/2}$) y la corriente de difusión límite (I_l).

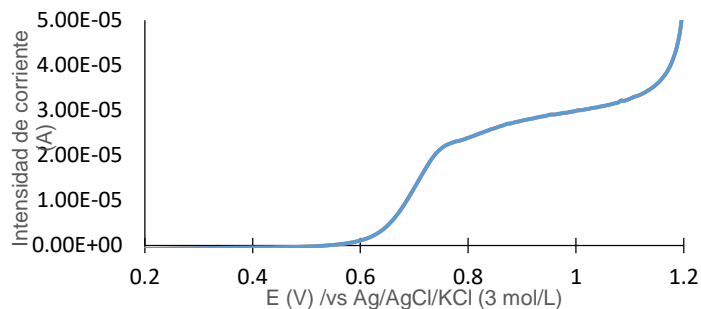
En la Figura 28 se observan algunos parámetros importantes, como son la corriente de difusión límite (I_l), que es la corriente que genera el sistema una vez se ha consumido el analito y el cual será de utilidad a la hora de cuantificar el mismo, ya que su relación es proporcional a la concentración del analito en la celda y a la cantidad

de electrones involucrados en las reacciones; otro parámetro de gran importancia es el potencial de media onda ($E_{1/2}$) que es el potencial que corresponde a una corriente i cuyo valor es la mitad del del valor de la intensidad de corriente límite (I_l) y que es característico de un compuesto en determinadas condiciones, por lo que puede resultar de utilidad para la identificación de un compuesto incluso en una mezcla (siempre y cuando estos valores de potencial de media onda de cada compuesto se encuentren lo suficientemente separados).

En la Figura 25 se da un ejemplo de un sistema reversible, aunque también se da el caso de tratar con sistemas irreversibles en donde las curvas son menos definidas; sin embargo, aún en estos sistemas, se puede realizar la cuantificación de un estándar por medio de una curva patrón, debido a que se puede relacionar el aumento de la corriente de difusión límite con el aumento en la concentración.

Anexo IV. Voltamperograma

Como ejemplo mostrado se trabajará con el voltamperograma de la Figura 29

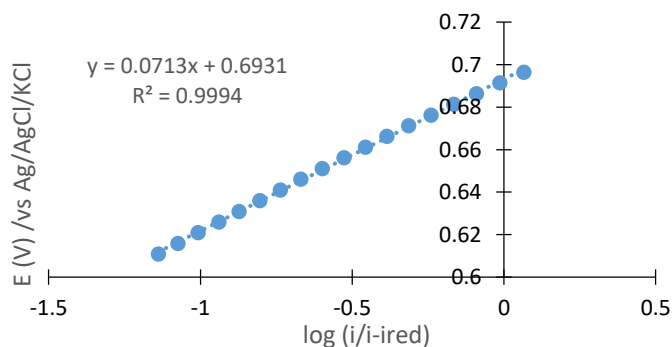


Para la determinación del $E_{1/2}$ se puede obtener de manera gráfica a partir de la Ecuación 21.

$$E = E_{1/2} + 2.3 * \frac{nF}{RT} * \log\left(\frac{i}{i_{red} - i}\right)$$

Ecuación 21. Expresión para la descripción de la forma de un voltamperograma.

La gráfica de la expresión de la Ecuación 21 se presenta en la Figura 30 cercano al salto.



Se realizó una regresión lineal, viendo la expresión de la Ecuación 21 se observa que la ordenada al origen es el valor de $E_{1/2}$, observando que este valor de onda media es de +0.693 V.

Anexo V. Formación de complejos

Esta prueba fue realizada buscando un complejo que involucrase al guaiazuleno, ya que un complejo de este estilo puede resultar de utilidad para su cuantificación en los extractos de manzanilla, en caso de no contar con el estándar de guaiazuleno.

El guaiazuleno fue puesto en presencia de diferentes sales de cationes metálicos, como lo fueron distintos compuestos de cobre (II), cloruro de níquel (II), cloruro de hierro (II) entre otros compuestos.

De los iones metálicos utilizados fue el cloruro de cobre (II) con el que se observaron resultados favorables, ya que luego de unos minutos de mezclar ambos compuestos hubo un cambio de color. Debido a este cambio observado fueron realizadas pruebas para estudiar este cambio, por espectrofotometría y por voltamperometría.

Estudio por espectrofotometría

Para el estudio por espectrofotometría una disolución que contuviese al guaiazuleno y al cloruro de cobre (II) fue preparada mezclando 5.0 mL de una disolución de guaiazuleno 3.2×10^{-3} mol/L en etanol agua (80:20), 2 ml de una disolución de cloruro de cobre (II) y un volumen de etanol/agua (80:20) para completar 10.0 mL de disolución.

Para poder comparar el espectro de absorción del guaiazuleno con el de la mezcla fue necesario obtener el espectro de absorción tanto de la mezcla como el de cloruro de cobre (II), esto usando el procedimiento anteriormente descrito para la determinación del espectro de absorción del guaiazuleno. Como blanco para la

medición de la absorbancia del cloruro de cobre (II) se usó agua desionizada, y como blanco para la mezcla se usó etanol/agua (80:20), sustituyendo los 2 mL de cloruro de cobre (II) 0.0118 mol/L con 2 mL de agua desionizada.

El estudio electroquímico se hizo de dos maneras, la primera fue haciendo adiciones de guaiazuleno a la celda del potencióstato, la cual contenía una cantidad conocida de cloruro de cobre (II) y la segunda haciendo adiciones de cloruro de cobre (II) a la celda del potencióstato la cual contenía una cantidad conocida de guaiazuleno. Para ambos casos, primero se añadieron volúmenes de una de las disoluciones y luego adiciones de la segunda disolución; para ello ambas disoluciones fueron preparadas para tener una concentración 0.01 mol/L.

Para cada adición se trazaron los voltamperogramas para la voltamperometría clásica y la voltamperometría diferencial de impulsos, realizando el barrido de potenciales desde la barrera de oxidación hasta la barrera de reducción, en todas las adiciones cuando el primer compuesto agregado fue el cloruro de cobre (II); cuando se agregó primero el guaiazuleno el barrido de potenciales fue realizado desde el potencial de reducción hasta la barrera de oxidación, con una velocidad de barrido de 5 mV/s.

El guaiazuleno fue puesto en presencia de diferentes sales de cationes metálicos, de estos cationes se observó un cambio de color al usar el cloruro de cobre (II), este cambio se muestra en la Figura 31.

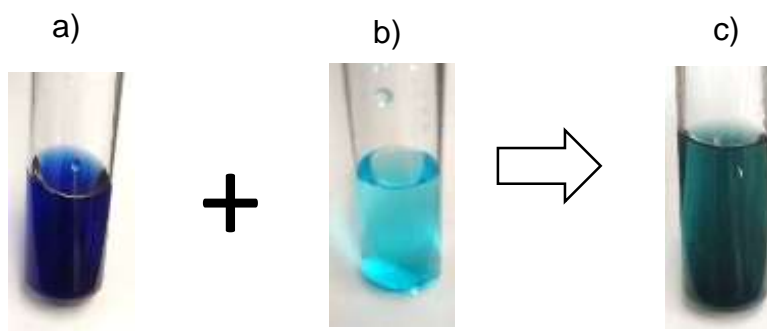


Figura 31. Cambio de color observado al mezclar guaiazuleno (a) con cloruro de cobre (II) (b); la mezcla (c) de ambos compuestos presentó un color azul con un tono verde, diferente de los azules de los compuestos por separado.

Este cambio de color fue observado luego de unos minutos de realizar la mezcla entre ambos compuestos, lo que no ocurrió con otras sales de cobre (II), por lo que se sospecha que puede tratarse de un complejo mixto entre el guaiazuleno, el ión cobre (II) y el ión cloruro.

Debido al cambio observado al realizar la mezcla se decidió realizar un estudio más profundo de este posible compuesto por espectrofotometría y voltamperometría.

Para poder realizar la comparación de los espectros de absorbancia se determinaron tanto el espectro de absorbancia del cloruro de cobre (II) como el de la mezcla entre el guaiazuleno y el cloruro de cobre (II); estos espectros se muestran en la Figura 32.

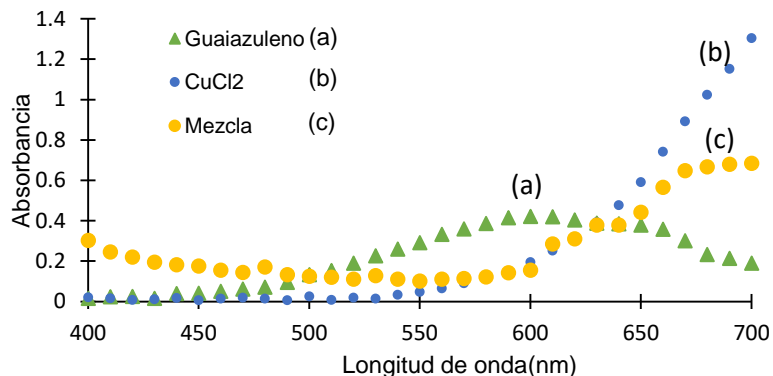


Figura 32. Espectros de absorción del a) guaiazuleno 3.2×10^{-3} mol/L en etanol/agua (80:20); b) de una disolución de cloruro de cobre (II) 1.18×10^{-2} mol/L y c) una mezcla que contiene al guaiazuleno y al cloruro de cobre (II) en proporción 2:3.

De la Figura 32 se observa que el espectro de absorbancia de la mezcla de guaiazuleno con cloruro de cobre (II) presenta diferencias respecto a los espectros de absorbancia individuales de los dos compuestos. Una de estas diferencias se aprecia en el intervalo de λ de 400 nm a 500 nm, ya que la mezcla absorbe energía a estas λ , a diferencia del cloruro de cobre (II) o el guaiazuleno; a esta absorbancia se puede atribuir al color verde observado en la mezcla.

También puede observarse que a partir de una λ de 560 nm el espectro de absorbancia del cloruro de cobre (II) y el de la mezcla coinciden, esto puede deberse al exceso de la sal de cobre (II), habiendo la posibilidad de tener una fracción de esta sal que no ha reaccionado con el guaiazuleno, por lo que esta fracción libre tendría influencia en la absorbancia de la mezcla, especialmente después de los 560 nm, observando un pico de absorción para el cloruro de cobre (II).