

20
24



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

**EXTRACTO ROJO DE COCHINILLA:
ESTUDIO DE LAS CONDICIONES DE EXTRACCION
Y SU IMPORTANCIA COMO COLORANTE NATURAL**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO EN ALIMENTOS
P R E S E N T A :
ALEJANDRO MORA IZQUIERDO



MEXICO, D. F.

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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	Prof. Soto Hernández Ramón Marcos
Vocal	Prof. Leal Lara Heriberto
Secretario	Prof. Carreño Ortiz Hugo Rubén
1er Suplente	Prof. Rodríguez Palacios Felipe de Jesús
2do Suplente	Prof. Álvarez Méndez Rodolfo

Este trabajo se llevó a cabo en las instalaciones del Programa de Botánica del Colegio de Postgraduados

• 2018 • 2018 • 2018 • 2018 •

Man Soto H.

Dr. Marcos Soto Hernández
(asesor)

Alejandro Mora Izquierdo

Alejandro Mora Izquierdo
(sustentante)

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	1
I. ANTECEDENTES.....	3
A. Colorantes en Alimentos.....	4
1. Importancia	4
2. Origen	4
3. Definición y clasificación	5
4. Regulación y toxicidad	6
B. Aspectos Generales de la Cochinilla.....	8
1. Ciclo biológico y cultivo	8
2. Reseña histórica	11
C. Industria de la Cochinilla.....	12
1. Cochinilla	13
2. Extracto de cochinilla	15
3. Carmín de cochinilla	15
4. Ácido carmínico	16
5. Comercio mundial	17
D. Extracción Sólido-Líquido.....	18
1. Definición	18
2. Velocidad de extracción	19
II. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....	20
1ª Fase: Materia Prima.....	21
1. Preparar muestra	21
2. Caracterizar muestra	22
2ª Fase: Condiciones de Extracción.....	23
1. Definir factores individuales (tiempo de contacto y disolvente)	23
2. Definir factores combinados (temperatura, pH y surfactante)	24

3ª Fase: Eficiencia de Extracción.....	25
1. Establecer tiempo de contacto en condiciones finales	25
2. Evaluar eficiencia de extracción	25
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	28
1ª Fase: Materia Prima.....	29
2ª Fase: Condiciones de Extracción.....	30
1. Factores individuales	30
2. Factores combinados	34
3ª Fase: Eficiencia de extracción.....	37
CONCLUSIONES.....	43
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45

INTRODUCCIÓN

Los colorantes sintéticos han sido muy utilizados en la industria alimentaria gracias a las ventajas técnicas que ofrecen y a su bajo costo. Sin embargo, las constantes reglamentaciones que controlan su elaboración y uso, relacionadas con su posible efecto tóxico; aunado a la tendencia mundial por adquirir productos de origen natural, han favorecido el resurgimiento de los colorantes naturales en los últimos años.

El ácido carmínico es un compuesto químico de intenso color rojo, que se obtiene de un insecto parásito del nopal, conocido como grana ó cochinitilla. Esta característica del insecto se aprovecha para su explotación en la industria de colorantes naturales.

El cultivo de la grana se originó en México en la época prehispánica, mucho tiempo antes de la conquista. Posteriormente en la época de la colonia, los españoles comercializaron la cochinitilla en tal cantidad, que llegó a ser para la Nueva España el tercer producto de exportación más importante, sólo después del oro y la plata. Sin embargo, su producción disminuyó drásticamente hacia mediados del siglo XIX, al aparecer los colorantes sintéticos en el mercado mundial.

Actualmente Perú y España (Islas Canarias) abastecen de cochinitilla al mercado mundial, pero su producción es insuficiente debido al aumento constante en la demanda del producto. En México, la grana se cultiva sólo en algunas localidades del estado de Oaxaca y su producción se utiliza para el teñido de artesanías.

Es claro que el cultivo de cochinilla tiene un gran potencial económico, pero su explotación requiere una tecnología en torno a su óptimo aprovechamiento; ya que las verdaderas ganancias de esta industria se obtienen al comercializar sus productos derivados: el extracto de cochinilla, el carmín de cochinilla y el ácido carmínico puro.

El extracto de cochinilla es el primer producto derivado del insecto seco; se utiliza como materia colorante y es también la base para la obtención del carmín de cochinilla y del ácido carmínico puro. El proceso de extracción se ha publicado en raras ocasiones y a grandes rasgos, porque los fabricantes mantienen en secreto los detalles técnicos y las condiciones óptimas del proceso. En el Colegio de Postgraduados se está trabajando[†] para rescatar el cultivo de la grana en México, y promover su industrialización dentro de la misma zona productora. Por lo anterior, se planteó ésta investigación de acuerdo con el siguiente

OBJETIVO:

Establecer las condiciones más adecuadas para extraer el pigmento de la cochinilla, con base en la modificación de cinco factores: tiempo de contacto, proporción de etanol-agua como disolvente, temperatura, pH y uso de un surfactante; para proponer un medio de extracción eficiente con posibilidad de aplicarse a nivel industrial.

[†] Se trata de un proyecto de investigación multidisciplinario, auspiciado por el Programa de Entomología y Acarología del Instituto de Fitosanidad del Colegio de Postgraduados.

I
ANTECEDENTES

A. Colorantes en Alimentos

1. Importancia

El color generalmente es la primera impresión sensorial que se tiene de un alimento y puede influir en la percepción de su olor, sabor, temperatura y textura.^{3, 21}

Casi todos los productos básicos en alimentos como carne, pan blanco, frutos y vegetales, tienen una apariencia natural aceptable y no son coloreados artificialmente. Existen tres razones principales que motivan el uso de colorantes en los alimentos: a) cuando no tienen color natural por sí mismos; b) porque su color natural fue destruido o drásticamente alterado como resultado del procesamiento y/o almacenamiento; y c) debido a que su color varía ampliamente con la temporada del año o su origen geográfico.^{11, 19}

Los consumidores asocian la idea del color de un alimento con su calidad; nosotros no compraríamos lechugas negras, arroz verde ó leche roja por ejemplo, puesto que ninguno de estos artículos se adecua a los estándares de calidad que hemos establecido de acuerdo con nuestras costumbres de consumo.^{11, 19}

2. Origen

No se sabe con certeza la época en que se originó el uso de colorantes en alimentos; algunos pigmentos extraídos de plantas y animales se usaron desde hace unos 3000 años. Mucho tiempo después, en los inicios del siglo XIX, se reportaron compuestos

químicos utilizados con la finalidad de adulterar alimentos, como es el caso de pepinos con sulfato de cobre, hojas de vegetal con óxido de cobre vendidas como té, y el color amarillo de quesos obtenido con sales de plomo. Los colorantes naturales tuvieron un gran valor comercial hasta 1856, año en que el inglés Williams Henry Perkins sintetizó el primer colorante derivado de alquitrán de hulla denominado "mauve". Tal acontecimiento estimuló la investigación con el fin de encontrar otros colorantes sintéticos que sustituyeran a los colorantes naturales.^{5, 19, 21}

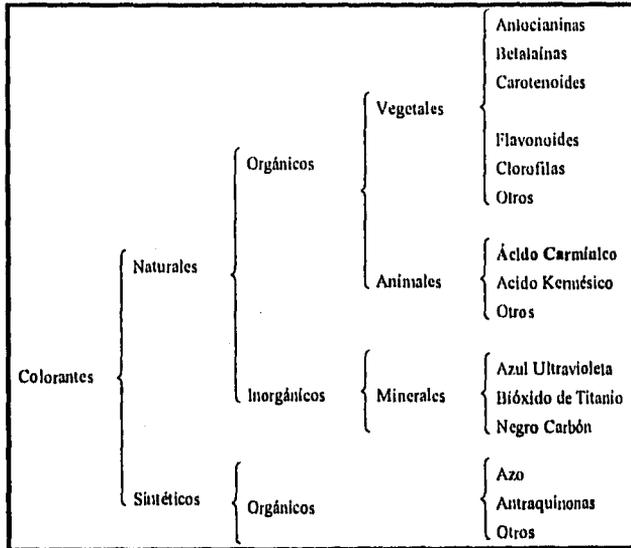
3. Definición y clasificación

En el área de los alimentos es evidente el uso de los colorantes como aditivos, pues no se consideran como un constituyente esencial de los productos.¹¹

Según la Secretaría de Salud en México, un colorante es aquel material que imparte color a otro material o mezcla, elaborado por un proceso de síntesis o similar; por extracción o por separación, obtenido de una fuente animal, vegetal o mineral y que posteriormente se ha sometido a pruebas fehacientes de seguridad que lo liberan para su uso en alimentos y en productos de perfumería y belleza o en alguna parte de ellos y que directamente o a través de su reacción con otras sustancias, es capaz de impartir el color que le caracteriza.³⁴

La clasificación más completa de los colorantes es aquella que se basa en su procedencia o su fuente de origen, como se muestra en el cuadro 1; aunque también se pueden clasificar en cuanto a su requerimiento de certificación (en E.U.); con base en su grupo cromóforo; etc.^{10, 11, 22}

Cuadro 1. Clasificación de colorantes según su origen.



4. Regulación y toxicidad

En la mayoría de los países se han creado instituciones y leyes encargadas de regular y establecer claramente, una descripción del uso y niveles de aplicación de los colorantes (naturales o sintéticos) que son permitidos en alimentos.^{5, 10}

En México, la legislación de alimentos está a cargo de la Secretaría de Salud. La regulación para aditivos alimentarios se establece en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios. En este mismo documento y en las normas correspondientes, se establece la lista de los colorantes permitidos para su uso en alimentos, los cuales se mencionan en el cuadro 2.^{33, 34, 35, 36}

Cuadro 2. Colorantes permitidos en México.

1. Colorantes orgánicos naturales
<ul style="list-style-type: none"> - Aceite de zanahoria (<i>Daucus carota</i> L.) - Achiote, amato (extracto de semillas de <i>Bixa orellana</i>) - Azafrán, (estigmas de <i>Crocus sativus</i> L.) - β-apo-8 carotenal - Betabel deshidratado - β-caroteno - Cantaxantina - Color caramelo - Clorofila - Cochinilla (extracto de <i>Coccus cacti</i> L. o camú) - Cúrcuma (polvo y oleoresina del rizoma de <i>Curcuma longa</i> L.) - Extracto de color de uva (uva concord) (antocianina) - Extracto de tegumento de uva (enocianina) - Harina de semilla de algodón cocida, tostada y parcialmente desgrasada - Jugos de frutas - Jugos de vegetales - Pimentón en polvo (<i>Capsicum annuum</i>, L.) - Oleoresina de pimentón - Ribo flavina - Ribo flavina-5-fosfato - Ester apocarotenico - Xantófilas
2. Colorantes orgánicos sintéticos o artificiales
<ul style="list-style-type: none"> - Amarillo N° 5 (tartrazina) - Azul N° 2 (indigotina) - Rojo cítrico N° 2 (sólo para colorear la corteza de la naranja) - Rojo N° 3 (eritrosina) - Rojo N° 40 - Verde N° 3
3. Colorantes orgánicos minerales
<ul style="list-style-type: none"> - Gluconato ferroso - Dióxido de titanio

Existe la tendencia a examinar periódicamente la toxicidad de los colorantes sintéticos permitidos como aditivos en alimentos[†], basándose en las pruebas de tipo biológico y toxicológico realizadas en animales de laboratorio. Los experimentos de toxicidad se hacen de diferente manera en cada laboratorio, y hasta el momento no existe una regla uniforme y válida para todos los países. Un resultado favorable, es cuando el investigador no encuentra efectos adversos bajo ciertas condiciones particulares de experimentación; pero esto no significa que otra persona, conduciendo un experimento diferente, con diferentes métodos y/o condiciones, ó examinando a los animales desde otro punto de vista, no pueda encontrar un posible efecto tóxico.^{5, 10}

De lo anterior se deduce que los colorantes sintéticos actualmente permitidos, podrían llegar en corto o mediano plazo, a considerarse nocivos a la salud; razón suficiente para que los colorantes de origen natural presenten un buen futuro como aditivos colorantes en la Industria Alimentaria.

• 02 • 03 • * 03 • 02 •

B. Aspectos Generales de la Cochinilla

1. Ciclo biológico y cultivo

La cochinilla, también conocida como grana^{††}, es un insecto que vive como parásito en diversas especies de nopal, principalmente de los géneros *Opuntia* y *Nopalea*. Se reconocen dos tipos de cochinilla: la fina, que es cultivada con fin comercial; y la corriente, que se desarrolla de manera silvestre sobre los nopales. La grana fina

[†] Principalmente en países desarrollados como: E.U., Japón, Inglaterra, Alemania, Francia, etc.

^{††} En este trabajo se hace uso indistinto de ambas denominaciones para referirse al insecto.

(*Dactylopius coccus*) es más apreciada principalmente por su mayor contenido de materia colorante. Su clasificación taxonómica completa se muestra en el siguiente cuadro.^{2, 6, 28}

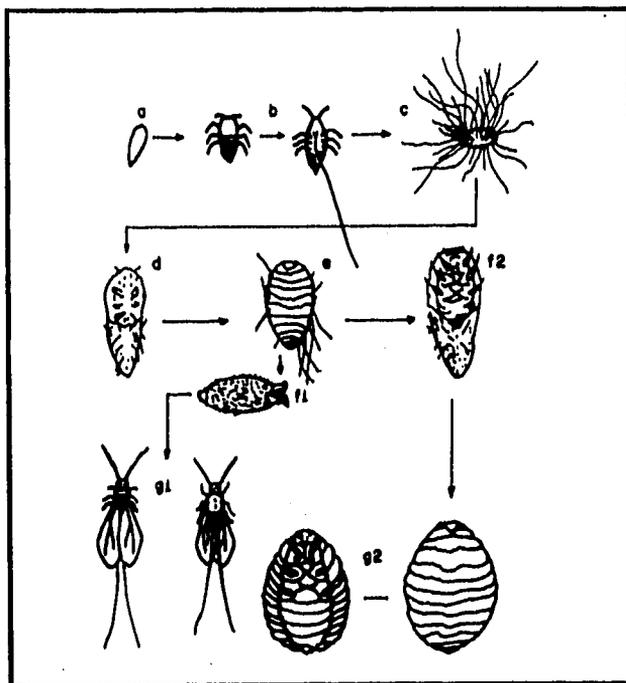
Cuadro 3. Clasificación taxonómica de cochinilla.

Clase	Insecta
Orden	Homóptera
Suborden	Stemorrhyncha
Superfamilia	Coccoidea
Familia	Dactylopiidae
Género	<i>Dactylopius</i>
Especie	<i>coccus</i>

La vida del insecto pasa por los estados de huevo, ninfa y adulto; como se muestra en la figura 1. En condiciones ideales, el insecto requiere de 90 días para su desarrollo desde el estado de huevo al de adulto. Después de éste período, las hembras quedan listas para ovipositar, con lo que se inicia un nuevo ciclo.^{4, 10}

La especie *Dactylopius coccus* Costa, presenta un marcado dimorfismo sexual; es decir, macho y hembra son totalmente diferentes en el estado adulto (figura 1). La hembra tiene el cuerpo globoso de 2-5 mm de diámetro, con surcos transversales, una cubierta de cera blanca pulverulenta, carece de alas, y vive fija sobre los nopales en los que inserta su aparato bucal para alimentarse del jugo de sus pencas. En contraste, el macho presenta un par de alas; la cabeza, tórax y abdomen bien diferenciadas; carecen de aparato bucal y son más pequeños que las hembras.^{14, 22, 30}

Figura 1. Ciclo biológico de cochinilla: a) huevecillo, b) vista dorsal y ventral de ninfa I migrante, c) ninfa I establecida, d) muda a ninfa II, e) ninfa II, f₁) capullo de macho, g₁) vista dorsal y ventral de macho adulto, f₂) muda a hembra adulta, g₂) vista dorsal y ventral de hembra adulta.³⁰



Para el cultivo de cochinilla se requiere de un clima templado, vientos escasos y poca precipitación pluvial. Durante el ciclo de producción se presentan cuatro etapas principales: selección, infestación, cosecha y muerte/secado.^{4, 10, 22}

2. Reseña histórica

La historia del cultivo de la grana se remonta al período tolteca, alrededor del siglo X de nuestra era; aunque los datos de su producción y comercialización provienen de crónicas de los mixtecos (pueblo que aún habita en el estado de Oaxaca), donde se menciona a la grana como uno de los principales y más valiosos productos que los Aztecas exigían como tributo. Las culturas prehispánicas usaban la cochinilla para teñir textiles, esculturas, murales y códices.^{2, 4, 10}

En tiempos de la conquista, la cochinilla fue cultivada en un área que se extendió desde los actuales estados de Guerrero y Tlaxcala, hasta Oaxaca. Durante la época colonial, los españoles dieron a conocer la cochinilla al mundo y se enriquecieron con su comercio. La cochinilla llegó a ser para la Nueva España, el tercer producto de exportación más importante después del oro y la plata; en tanto que para los indígenas sólo fue un medio para pagar su tributo a la Corona.^{4, 10, 22}

El monopolio español del comercio de cochinilla quedó abolido después de la época de independencia; fue entonces cuando otros países como Perú y España (I. Canarias), entraron al mercado mundial. Al sumar la producción de las nuevas zonas con la de México, se provocó la disminución de los precios internacionales del producto.^{2, 4, 10}

Hacia mediados del siglo XIX, científicos ingleses y alemanes sintetizaron colorantes rojos derivados de anilinas, que por ser más baratos, hacen decaer la producción de cochinilla y la colocan en segundo término.^{4, 10, 22}

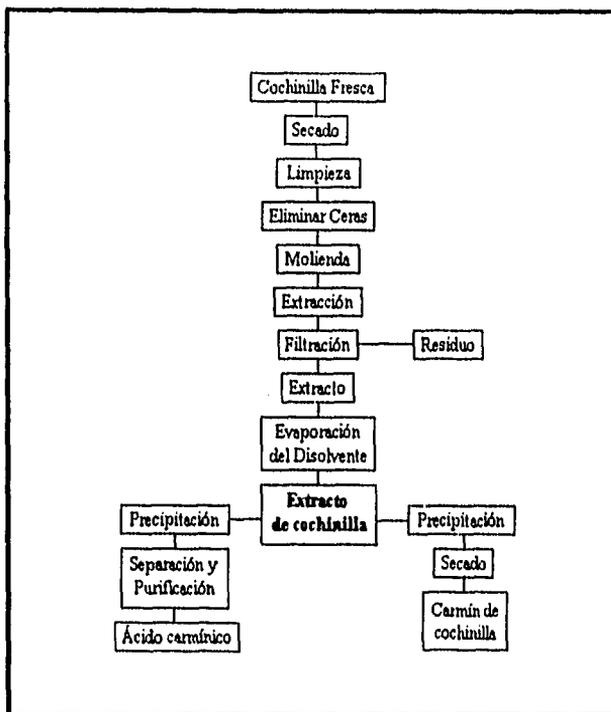
En México, el cultivo de la grana fina casi se extinguió. A la fecha, aún subsisten algunas industrias familiares en el estado de Oaxaca, que sólo satisfacen la demanda de su mercado interno para trabajos artesanales, siendo importada la cochinilla que se emplea en la industria mexicana. En cambio, el cultivo de la cochinilla logró permanecer y desarrollarse en Perú y en España (Islas Canarias), que son los principales productores a nivel mundial.⁴

• • • • •

C. Industria de la Cochinilla

La industrialización de la cochinilla puede conducir a cuatro formas comerciales que son: cochinilla, **extracto de cochinilla**, carmín de cochinilla y ácido carnínico. A pesar de tener el mismo origen, sus características y aplicaciones pueden ser muy variadas. Es importante mencionar que la metodología para la obtención de los derivados de cochinilla se ha publicado en raras ocasiones, debido a que la información del proceso es un "secreto" que cada industria guarda celosamente; como ejemplo tenemos la figura 2, donde se mencionan a grandes rasgos las etapas principales del proceso.^{4, 21, 22}

Figura 2. Proceso de industrialización de cochinilla.



1. Cochinilla

Se denomina así a los cuerpos secos de las hembras; son de aspecto granular y su coloración varía del gris al negro, que adquieren cuando se elimina la capa de cera blanca que les cubre. La composición química de cochinilla fina es la siguiente: ácido carmínico 22%, proteínas 40%, grasas 10%, ceras 2% y cenizas 2%.³

La cochinilla se muele para obtener un polvo fino, del cual se obtienen sus colorantes derivados. En el cuadro 4 se presentan las especificaciones internacionales para la cochinilla y sus derivados, con las cuales se establece su calidad comercial.^{2,4,22}

Cuadro 4. Especificaciones internacionales de cochinilla y sus principales derivados.

	COCHINILLA (CALIDAD)		EXTRACTO		CARMÍN	
	I	II	No Menor	No Mayor	No Menor	No Mayor
pH			5,0	5,5		
Proteínas				2,2 %		
Sólidos totales			5,7 %	6,3 %		
Alcohol metílico				150 ppm		
Plomo				10 ppm		10 ppm
Arsénico				1 ppm		1 ppm
Materias volátiles						20 %
Cenizas max.	5 %	12 %				12 %
Humedad max.	11 %	11 %				17 %
Impurezas max.	5 %	8 %				
Ácido carmínico min.	20 %	15 %	1,8 %		50 %	

2. Extracto de cochinilla

El insecto seco y molido, se pone en contacto con agua caliente o con soluciones acuoso-alcohólicas para extraer el principio colorante. Posteriormente, se evapora gran parte del disolvente y se obtiene una solución acuosa concentrada; la cual se denomina extracto de cochinilla, y cuyo contenido mínimo de ácido carmínico debe ser de 1,8% como se menciona en el cuadro anterior.^{17, 19}

El extracto de cochinilla presenta buena estabilidad frente a la luz y oxidación, pero pobre estabilidad hacia el pH y ataque microbiológico. Su capacidad tintórea es moderada y su rango de uso permitido es de 25-1000 ppm. Frecuentemente contiene benzoato de sodio como conservador. Sus aplicaciones principales son en bebidas, productos cárnicos, especias, salsas, etc.¹⁹ La extracción puede ser a temperaturas entre 90-100°C en medio acuoso. Se ha reportado que mejora el rendimiento si el insecto seco y molido se trata, previo a la extracción, con soluciones de enzimas proteolíticas en presencia de un surfactante adecuado.¹⁷

La etapa de extracción del colorante es un punto crítico en la obtención de los derivados de la cochinilla (figura 2); en esta etapa se centra la presente investigación, surgida a raíz de la incertidumbre que se presenta en cuanto a las condiciones óptimas del proceso de extracción.

3. Carmín de cochinilla

La característica del ácido carmínico para formar complejos con metales, se aprovecha en la manufactura de carmines. Se denomina carmín de cochinilla a la laca[†] que forma el ácido carmínico con sales de aluminio o de calcio-aluminio. Para obtener 1 kg de carmín se necesitan de 4 a 5 kg de cochinilla seca.¹⁷

El carmín de cochinilla es el producto(derivado del insecto), de mayor demanda. En la industria alimentaria se usa en la preparación de sazónadores, confituras, pastelería, bebidas, lácteos, embutidos, etc. En la industria de cosméticos se emplea en la preparación de lápices labiales, polvos y otros productos; así como en la preparación de pastas

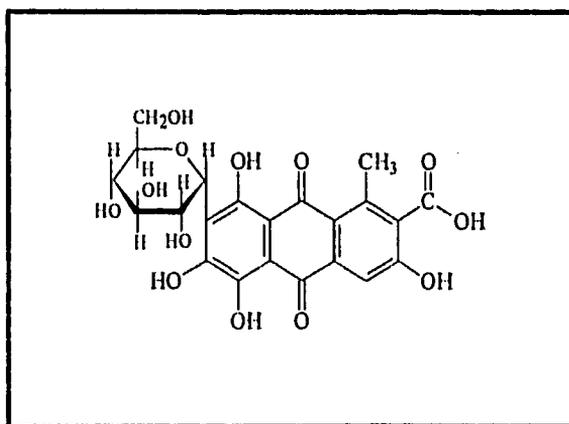
[†] Son pigmentos insolubles, que se obtienen por precipitación de materias colorantes en solución, al reaccionar con sales metálicas.²⁷

dentíficas. En menor cantidad se emplea en el teñido de textiles, como indicador químico, en la preparación de pinturas a la acuarela y en forma combinada en cintas para máquinas de escribir.^{10, 22}

4. Ácido carmínico

El ácido carmínico es el compuesto químico básico del pigmento rojo de la cochinilla; este compuesto es una hidroxiantraquinona enlazada a una unidad de glucosa. Su estructura química (figura 3) se describe completamente como: ácido-7- α -D-glucopiranosil-9,10-dioxo-1-metil-3,5,6,8-tetrahidroxi-antracencarboxílico. Su peso molecular es 492.39; es soluble en agua, alcohol, ácido sulfúrico concentrado, ligeramente soluble en éter, y prácticamente insoluble en éter de petróleo, benceno o cloroformo. Obtener el ácido carmínico puro requiere de un proceso difícil y muy costoso, mediante la formación de un compuesto insoluble con el plomo y posteriores técnicas de separación y purificación.¹⁰

Figura 3. Estructura química del ácido carmínico.



La coloración de las soluciones de ácido carmínico es afectada por el pH; variando a un tono amarillo-naranja en pH ácido, rojo escarlata en medio neutro y rojo-púrpura en medio alcalino. Su demanda es muy limitada debido a su costo tan elevado. Se utiliza como indicador y reactivo químico en tinciones histológicas y bacteriológicas; en la industria fotográfica, y en la detección de metales raros.^{18, 16}

5. Comercio mundial

Existe un considerable interés mundial en el desarrollo de la industria de colorantes naturales; esta tendencia se atribuye a tres razones principales: 1) al aumento en la producción de alimentos procesados, 2) a la preferencia de consumir productos de origen natural, y 3) a los ajustes a nivel mundial en la reglamentación de colorantes sintéticos. El marcado aumento de la demanda de colorantes naturales, augura un buen panorama para la cochinilla y sus derivados, principalmente considerando su mayor estabilidad en comparación al resto de colorantes de origen natural.^{2, 11, 15, 22}

A nivel mundial, Perú produce el 85% de la cochinilla y el 15% restante España (Islas Canarias). Otros países que producen cochinilla en menor escala, empiezan a ser autosuficientes en el producto, entre los que se mencionan: Argelia, Kenia, Francia, Italia y Bolivia.^{2, 22}

Los principales importadores de la cochinilla peruana[†] son: Francia 45.4%, Reino Unido 18.5%, Japón 17.3%, Argentina 5%, y Holanda 4.5%. Los principales importadores de la cochinilla española^{††} son: Italia 43.5%, Francia 18.3%, Japón 16.2%, Reino Unido 14.3%, Irán 6.1% y Túnez 0.8%.^{2, 22}

En términos generales, la demanda y los precios de cochinilla se han incrementado significativamente; sobre todo de los colorantes derivados, que poseen un mayor valor agregado que la materia prima. En este orden, es importante que cualquier programa para fomentar la producción de cochinilla en México, incluya en consecuencia la creación de su industria de transformación.^{2, 22}

Las condiciones geográficas, los conocimientos técnicos y los antecedentes históricos del cultivo de cochinilla en México, presentan un excelente panorama para el resurgimiento y desarrollo de la industria de cochinilla en nuestro país.

• • • • •

D. Extracción Sólido-Líquido

1. Definición

La extracción sólido-líquido, también conocida como lixiviación, percolación ó infusión, se refiere a la separación de un componente soluble contenido en un sólido, por medio de un disolvente líquido. Según la terminología usual, al componente soluble se le denomina el soluto, el disolvente es el líquido que generará la extracción, la solución final

[†] De un volumen promedio de producción anual de 147 ton en 1986.

^{††} De un volumen promedio de producción anual de 30 ton en 1980.

del soluto en el disolvente se le designa extracto y el material inerte es el residuo insoluble en el disolvente, que resulta de la extracción.^{5, 12}

En la industria de alimentos, la extracción sólido-líquido juega un papel importante durante muchos procesos de producción de comestibles: la obtención de sacarosa a partir de la caña, la extracción de aceites de semillas oleaginosas, la extracción de oleorresinas, etc.

2. Velocidad de extracción

En la velocidad de extracción influyen varios factores, entre los que destacan: el tamaño de partícula, la afinidad soluto-disolvente, la temperatura y la agitación del fluido. El efecto del tamaño de partícula se puede explicar de dos maneras: las partículas pequeñas ofrecen una mayor superficie de contacto con el disolvente y una menor distancia radial para el soluto que difunde desde su interior hasta su superficie. Sin embargo, el tamaño de las partículas no debe reducirse de manera indiscriminada, porque una partícula excesivamente pequeña crea problemas de circulación del líquido a su alrededor y porque forma lodos que son difíciles de separar una vez que la extracción ha terminado.^{5, 12}

La elección del disolvente es crucial porque de ello depende la selectividad de la extracción. Por lo tanto, el disolvente debe ser selectivo y preferentemente de baja viscosidad para evitar problemas de mezclado y separación. El incremento de la temperatura, provoca el aumento de velocidad de extracción porque la solubilidad y la difusión del soluto aumentan. La agitación reduce la resistencia a la transferencia de masa en la superficie de la partícula durante la extracción. Además promueve un mayor contacto entre las dos fases.^{5, 12}

II

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

El trabajo experimental se efectúa en tres fases:

1ª fase: Incluye la preparación y caracterización de la materia prima.

2ª fase: Se definen las condiciones para favorecer la extracción del pigmento:

(tiempo de contacto, disolvente, temperatura, pH y surfactante).

3ª fase: Se evalúa la eficiencia de las condiciones de extracción.

Debido a la dificultad de conseguir suficiente muestra de cochinilla fina para toda la experimentación, se optó por utilizar cochinilla silvestre[†] como un modelo experimental durante la 2ª fase (condiciones de extracción); y en las pruebas finales de la 3ª fase (eficiencia de extracción) se realizan con cochinilla fina^{††} para concluir con resultados más confiables. Es importante mencionar que cada ensayo se lleva a cabo por triplicado en todas las pruebas.

• 03 • 83 • * 03 • 83 •

1ª Fase: Materia Prima

1. Preparar muestra

Muerte y secado: 100 g de cochinilla silvestre y 10 g de cochinilla fina se calientan en estufa (Felisa Modelo 29 AD), a 60 °C durante 24 horas para matar y secar al insecto.

Extracción de lípidos: la cochinilla seca se pone en contacto con tolueno durante 1 hora, en un sistema de extracción soxhlet, hasta agotar las grasas y ceras.

[†] Recolectada de nopaleras de cultivo en Milpa Alta, donde se le considera una plaga indeseable.

^{††} Proporcionada por la Biol. Ana Lilia Viguera G., quien forma parte del equipo de investigación de cochinilla en el Colegio de Postgraduados.

Molienda y tamizado: La muestra seca y sin lípidos, se tritura en mortero hasta reducirla a un tamaño de partícula suficiente para atravesar una malla N° 100.[†]

2. Caracterizar muestra

* Humedad: En un pesafiltro (previamente puesto a peso constante durante 2 horas a $130 \pm 3^\circ\text{C}$), se ponen 100 mg de muestra y se seca 1 hora en la estufa a la misma temperatura. Se retira de la estufa, y tapado se deja enfriar en el desecador hasta su equilibrio con la temperatura ambiente para pesarlo.

$$\% \text{ HUMEDAD} = (A - B) \times 100 / M$$

A: Pesafiltro con muestra húmeda (g)

B: Pesafiltro con muestra seca (g)

M: Muestra húmeda (g)

* Cenizas: Se pesan 100 mg de muestra en un crisol, que ha sido previamente puesto a peso constante en la mufla 2 horas a 600°C . Se calcina la muestra primero con mechero, hasta que deja de desprender humos negros, y después en la mufla a 550°C , hasta que las cenizas quedan blancas. Se retira de la mufla y se deja enfriar en desecador hasta su equilibrio con la temperatura ambiente para pesarlo.

$$\% \text{ CENIZAS} = (A - B) \times 100 / M$$

A: Crisol con cenizas (g)

B: Crisol vacío (g)

M: Muestra (g)

[†] De Chávez Moreno Carla K., es el tamaño de partícula más efectivo para la extracción del pigmento.⁵

* Ácido carmínico³⁰: En un vaso de precipitados se pesan 100 mg de cochinilla en polvo, se mezcla con 30 ml de HCl 2 N, y se pone a ebullición durante 10 min. Se afora a 1 litro con agua desionizada, se filtra, se desechan los primeros 200 ml del filtrado, y los siguientes 30 ml se utilizan para leer la absorbancia de la solución en espectrofotómetro UV-vis. a una longitud de onda de 494 nm (que corresponde a su λ de máxima absorción).

$$\% \text{ ÁCIDO CARMÍNICO} = (\text{Abs} \times 100) / 1,39$$

Abs: Absorbancia de la solución final

1,39: Abs de una solución de ácido carmínico puro 100 mg/l.

• • • • •

2ª Fase: Condiciones de Extracción

1. Definir factores individuales[†] (tiempo de contacto y disolvente)

* Proporción muestra-disolvente: Este factor no se evalúa experimentalmente, sino que el valor de 3,3% se toma de la bibliografía^{††}. A partir de este valor, la muestra y el disolvente se adecuan a cantidades suficientes para realizar cada prueba en tubos de ensayo, como se indica a continuación: 50 mg de muestra se colocan sobre un círculo de tela porosa de 5 cm de diámetro, se envuelve y se amarra con un hilo nylon sobre el perímetro, para formar un pequeño saco[‡]. El volumen de disolvente que se utiliza en cada ensayo es de 1,5 ml.

[†] Es decir que en cada prueba se define el valor de un sólo factor.

^{††} De Chávez M., Carla K., donde se utiliza una proporción muestra-disolvente de 3%.⁵

[‡] De esta manera se evita filtrar el extracto después del contacto muestra-disolvente. Estos pequeños sacos con muestra se utilizan en cada ensayo de todas las pruebas en la experimentación.

* **Tiempo de contacto:** Se realizan siete ensayos con tiempos de duración de 0,5 / 0,50 / 0,75 / 1 / 2 / 3 y 4 horas respectivamente. La muestra y el disolvente se ponen en contacto dentro de tubos de ensayo a una temperatura de 20°C y en oscuridad. Una vez transcurrido el tiempo correspondiente, se realiza lo siguiente:

- a) eliminar el residuo del tubo
- b) tomar una alícuota de 0,5 ml del extracto
- c) diluir la alícuota a 10 ml con una solución buffer de fosfatos de pH 7 (0,1 M)
- d) tomar la lectura de absorbancia de la solución resultante en un espectrofotómetro (λ 494 nm), usando como blanco la solución buffer

* **Disolvente:** Se realizan once ensayos con muestras de 10^6 en agua como disolvente, en proporciones de 10 / 20 / 30 / 40 / 50 / 60 / 70 / 80 / 90 / 100 y 110%, 10^6 respectivamente. La muestra y el disolvente se ponen en contacto dentro de tubos de ensayo a 20°C, en oscuridad y durante 2 horas. Transcurrido el tiempo de contacto, se sigue el mismo procedimiento de los métodos E.O.C. mencionados en la prueba de tiempo de contacto.

2. Definir factores combinados (temperatura, pH y surfactante)

En esta prueba se realizan un diseño experimental de tres factores, con niveles y niveles repetidos. Las incógnitas investigadas son:

- Temperatura: 10°C, 20°C, 30°C, 40°C, 50°C
- pH: 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12
- Surfactante: 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 , 10^{10} , 10^{11} , 10^{12}

Los datos obtenidos se utilizan en un modelo matemático para determinar:

- El tiempo de contacto de la prueba estándar, según el modelo
- El porcentaje de lisis por prueba de estabilidad, para los datos obtenidos en las pruebas
- Una simulación de los resultados experimentales, para determinar el efecto de los factores de prueba y el tiempo de contacto, en la actividad de la muestra.

* **Tiempo de contacto:** Se realizan siete ensayos con tiempos de duración de: 0,25 / 0,50 / 0,75 / 1 / 2 / 3 y 4 horas respectivamente. La muestra y el disolvente[†] se ponen en contacto dentro de tubos de ensayo a una temperatura de 20°C y en oscuridad. Una vez transcurrido el tiempo correspondiente, se realiza lo siguiente:

- a) eliminar el residuo del tubo
- b) tomar una alícuota de 0,5 ml del extracto
- c) diluir la alícuota a 10 ml con una solución buffer de fosfatos de pH 7 (0,1 M)
- d) tomar la lectura de absorbancia de la solución resultante en un espectrofotómetro (λ 494 nm), usando como blanco la solución buffer.

* **Disolvente:** Se realizan once ensayos con mezclas de etanol en agua como disolvente, en proporciones de: 0 / 10 / 20 / 30 / 40 / 50 / 60 / 70 / 80 / 90 y 100% v/v respectivamente. La muestra y el disolvente se ponen en contacto dentro de tubos de ensayo a 20°C, en oscuridad y durante 2 horas^{††}. Transcurrido el tiempo de contacto, se sigue el mismo procedimiento de los incisos a,b,c,d, mencionados en la prueba de tiempo de contacto.

2. Definir factores combinados[‡] (temperatura, pH y surfactante)

En esta prueba se plantea un diseño experimental de tres factores, con interacción y doble repetición. Los factores involucrados son:

* **Temperatura** (°C): $T_1=20$ / $T_2=45$ / $T_3=70$

* **pH:** $pH_1=7,0$ / $pH_2=8,5$ / $pH_3=10,0$ / $pH_4=11,5$

* **Surfactante^{‡‡}** (% p/v): $S_0=0$ / $S_1=0,001$ / $S_2=0,01$ / $S_3=0,1$

[†] En esta prueba se utiliza de manera preliminar agua destilado.

^{††} Tiempo elegido de la prueba anterior: tiempo de contacto.

[‡] Es decir que en una sola prueba se establece el valor de cada uno de los tres factores.

^{‡‡} Son sustancias con actividad interfacial. En este caso se utiliza una muestra comercial "Span 40", cuyo valor de HLB=6.7, indica que puede ejercer una función como agente humectante en interfase sólido-líquido.²⁰

La muestra y el disolvente (etanol 70%)¹ se ponen en contacto en condiciones que varían de acuerdo con las combinaciones de los factores. Una vez transcurridas las 2 horas de contacto, se procede con las mismas actividades de los incisos a,b,c,d, mencionados en la prueba de tiempo de contacto. Finalmente, para realizar el análisis estadístico de los datos se aplica un análisis de varianza.

• • • • •

3ª Fase: Eficiencia de Extracción

1. Establecer tiempo de contacto en condiciones finales

Esta prueba es necesaria debido a que la combinación de las condiciones finales (disolvente, temperatura, pH y surfactante), y el uso de cochinilla fina en la tercera fase, modifican el tiempo de contacto. El procedimiento es semejante a la prueba anterior de tiempo de contacto, sólo que se aplican las nuevas condiciones: etanol 70% como disolvente, temperatura 70°C, pH 7 y surfactante 0.01%.

2. Evaluar eficiencia de extracción

Se compara la eficiencia mediante una extracción por etapas simples, en cinco medios diferentes; como se muestra en el cuadro 5. El medio ① corresponde a las condiciones establecidas experimentalmente y los cuatro restantes sirven como testigos de cada uno de los factores evaluados.

¹ Proporción elegida de la prueba anterior: disolvente.

Cuadro 5. Medios de extracción para comparar la eficiencia, al variar los diferentes factores experimentales.

MEDIO	TEMPERATURA (°C)	pH	SURFACTANTE (% p/v)	DISOLVENTE (% etanol)
① Condiciones establecidas	70	7	0.01	70
② Testigo temperatura	20	7	0.01	70
③ Testigo pH	70	11,5	0.01	70
④ Testigo surfactante	70	7	0.00	70
⑤ Testigo disolvente	70	7	0.01	0

Para realizar la extracción por etapas se utiliza para cada medio una serie de tubos de ensayo con disolvente, donde la muestra contenida en los pequeños sacos, se transfiere de un tubo a otro cada 30 min[†], hasta agotar el pigmento. Cada tubo simula una etapa de extracción.

Se define la eficiencia de extracción como la capacidad del medio para extraer el pigmento contenido en la muestra de cochinilla. Esta eficiencia se mide como porcentaje de eficiencia de extracción (%EE) y su valor puede variar de 0-100%, de acuerdo con la siguiente técnica^{††}: Se toma una alícuota de 0.5 ml del extracto resultante de cada etapa, se diluye a 10 ml con una solución de HCl 0.06 N y de la disolución final, se toma la lectura de absorbancia en el espectrofotómetro a 494 nm.

[†] Es el tiempo de contacto elegido de la prueba anterior, y es el definitivo para la extracción.

^{††} Debido a la carencia de una muestra estándar, la técnica para medir la eficiencia de extracción se basa en la técnica de cuantificación de ácido carnúico tomada de la bibliografía.²⁰

$$\% \text{ EE} = \frac{(\text{Abs} \times 100) \times 10^{-3} \times \text{VD} \times \text{VTE}}{1,39 \times \text{VA} \times (\% \text{ AC} \times \text{M})}$$

Abs: Absorbancia de la dilución final

100: Concentración de una solución estándar de ácido carmínico (mg/ml)

1,39: Absorbancia de la solución estándar

10^{-3} : Factor de conversión litros \rightarrow mililitros

VD: Volúmen de dilución 10 ml

VTE: Volúmen total del extracto 1,5 ml

VA: Volúmen de alícuota 0,5 ml

M: Muestra de cochinilla 50 mg

%AC: Contenido de ácido carmínico en la muestra de la materia prima 21%



III
RESULTADOS
Y
DISCUSIÓN

NOTA: Los resultados de todas las pruebas se presentan en promedio de las tres determinaciones realizadas por cada ensayo.

• 03 • 80 * 03 • 80 •

1ª Fase: Materia Prima

La caracterización de la materia prima se muestra en el siguiente cuadro:

Cuadro 6. Caracterización de la materia prima.

COCHINILLA	HUMEDAD (%)	CENIZAS (%)	AC. CARMÍNICO (%)
Silvestre	8.3	8.0	10.8
Fina	9.2	6.0	21.0

El contenido de humedad y cenizas es, sin duda, un parámetro importante en la evaluación de la calidad de muchos productos; pero el contenido de ácido carmínico es la característica más importante para determinar la calidad de los productos de cochinilla.

Los resultados de humedad y cenizas en ambas muestras de cochinilla indican una buena calidad del producto, de acuerdo con sus estándares internacionales (cuadro 4). En cambio, el contenido de ácido carmínico difiere mucho: la muestra de grana fina con 21% alcanza la clasificación de calidad I; y la muestra de grana silvestre con 11% no alcanza ni la clasificación de calidad II. La gran diferencia en el contenido de ácido carmínico, es la principal razón de que la grana fina tenga un valor comercial elevado, y en cambio, la grana silvestre se considere de escaso valor.

• 02 • 03 • # 03 • 03 •

2ª Fase: Condiciones de Extracción

1. Factores individuales

Estos primeros dos factores se evaluaron de manera aislada, porque su acondicionamiento es más complicado e implica un número muy grande de combinaciones con los otros factores.

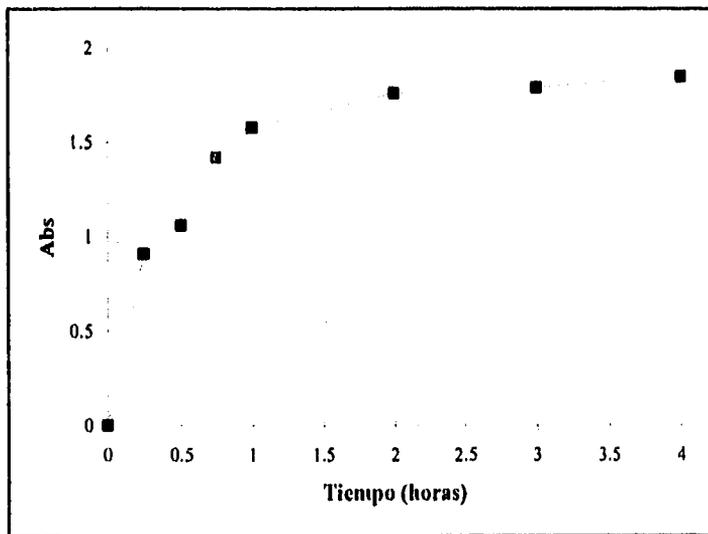
* **Tiempo de contacto:** Los resultados de esta prueba se presentan en el cuadro 7. Se observa en la figura 4, que la tendencia es el aumento de la absorbancia[†] hasta las 2 horas. Posterior a este tiempo la absorbancia tiende a ser constante, lo cual indica que el medio llega a su máxima capacidad de extracción. Del resultado de esta prueba, se eligen 2 horas como tiempo de contacto preliminar, mientras se adecua el resto de los parámetros. La prueba de tiempo de contacto se repite posteriormente, para fijar este parámetro en las condiciones finales.

[†] Se considera la lectura de absorbancia como una medida indirecta de la eficiencia de extracción. De acuerdo con la ley de Lambert-Beer, la absorbancia de una solución varía directamente proporcional a la concentración del compuesto.

Cuadro 7. Absorbancia del extracto en función del tiempo de contacto entre la muestra y el disolvente, en condiciones preliminares.

TIEMPO (horas)	ABSORBANCIA
0,25	0,91
0,50	1,06
0,75	1,42
1,00	1,58
2,00	1,76
3,00	1,79
4,00	1,85

Figura 4. Absorbancia del extracto en función del tiempo de contacto entre la muestra y el disolvente.

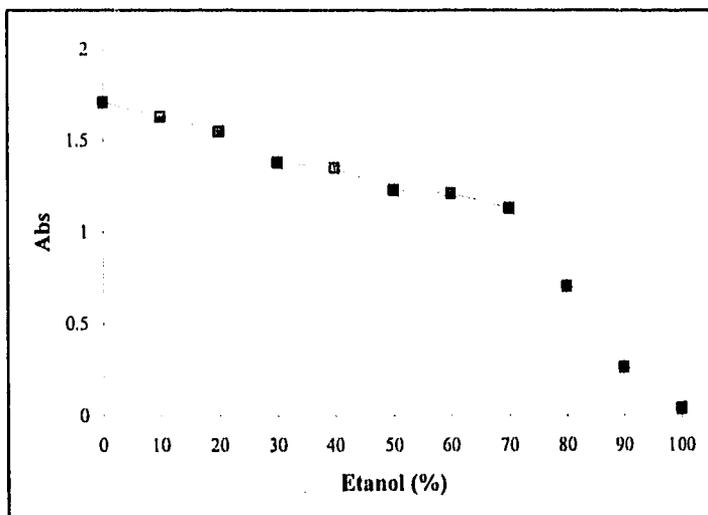


* **Disolvente:** Los resultados de ésta prueba se presentan en el cuadro 8; la tendencia de los resultados en la figura 5, muestra que el aumento de la proporción de etanol en las condiciones preliminares, provocaron una disminución en la eficiencia de extracción; tal comportamiento se esperaba, pues la molécula de ácido carníñico que es de una polaridad alta (fig. 3), tiene mayor afinidad con el agua que con el etanol.

Cuadro 8. Absorbancia del extracto en función de la mezcla disolvente: etanol-agua.

DISOLVENTE (% etanol)	ABSORBANCIA
0	1,71
10	1,63
20	1,55
30	1,38
40	1,35
50	1,23
60	1,21
70	1,13
80	0,70
90	0,26
100	0,04

Figura 5. Absorbancia del extracto en función de la mezcla disolvente: etanol-agua.



La importancia de involucrar la mayor proporción de etanol como disolvente durante el proceso, radica en dos situaciones:

a) El ahorro de energía. En un proceso posterior a la extracción del pigmento, se requiere evaporar gran parte del disolvente para concentrar el extracto hasta un contenido de 1,8 % de ácido carmínico, que es la especificación del contenido mínimo en extracto de cochinilla (cuadro 4). Si el disolvente es mayoritariamente etanol, la cantidad de energía requerida para su evaporación, es menor que la energía requerida para evaporar agua puro.

b) El ahorro de disolvente. El etanol evaporado puede recuperarse por condensación para ser reutilizado en el proceso.

La mezcla de etanol al 70% se considera la mejor proporción que se puede utilizar como disolvente; ya que a una proporción mayor, la absorbancia del extracto disminuye notablemente (figura 5). A pesar de que los resultados de esta prueba no son alentadores en las condiciones preliminares, se decidió continuar con el uso de la mezcla de etanol 70% hasta llegar a conocer la eficiencia de extracción en las condiciones finales, para discutir entonces acerca de la factibilidad de su uso.

2. Factores combinados

Los siguientes tres factores se evalúan en forma combinada: temperatura, pH y surfactante. Los resultados se muestran en el cuadro 9 y su análisis estadístico en cuadro 10.

Cuadro 9. Absorbancia del extracto en función de la temperatura, pH y surfactante.

$T_1=20 / T_2=45 / T_3=70^\circ\text{C}$; $\text{pH}_1=7,0 / \text{pH}_2=8,5 / \text{pH}_3=10,0 / \text{pH}_4=11,5$;
 $S_0=0 / S_1=0,001 / S_2=0,01 / S_3=0,1\%$ p/v.

	S ₀			S ₁			S ₂			S ₃		
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₁	T ₂	T ₃	T ₁	T ₂	T ₃	T ₁	T ₂	T ₃
pH ₁	1,07	2,07	2,57	1,07	1,89	2,62	1,05	1,95	2,79	1,14	1,80	2,81
pH ₂	1,04	1,78	2,63	1,12	1,94	2,58	1,13	1,95	2,69	1,07	1,99	2,72
pH ₃	1,12	2,06	2,41	1,20	1,77	2,71	1,08	2,18	2,58	1,11	2,04	2,71
pH ₄	0,89	1,52	2,40	0,72	1,67	2,38	0,79	1,45	2,42	0,99	1,86	2,62

* **Temperatura:** De acuerdo con el ANOVA, la temperatura es el factor de mayor influencia en la extracción del pigmento; su incremento tiende a favorecer notablemente la extracción. Este efecto se esperaba por las siguientes razones: en primer lugar, se sabe que el incremento de la temperatura provoca un aumento en la solubilidad del compuesto (al incrementarse la energía cinética de las moléculas del disolvente y el soluto, se establece un contacto más dinámico entre ellas); y en segundo lugar, el alto contenido de proteínas en el insecto (40%), hace suponer que el pigmento se encuentra retenido entre redes proteicas, y es relativamente difícil su difusión a la superficie de las partículas para ponerse en contacto con el disolvente. Con el incremento de temperatura, las proteínas se desnaturalizan rompiéndose las redes, y permitiendo una mayor disponibilidad del pigmento para ser extraído.

Cuadro 10. Análisis de varianza (ANOVA) Efecto de la temperatura, pH y surfactante en el medio de extracción.

F. V.	S. C.	G. L.	C. M.	F		CONCLUSIÓN (efecto)
				EXP.	TAB 5%	
pH	1,8107	3	0,6035	47,37	> 2,70	✓
SURFACTANTE	0,2644	3	0,0881	6,62	> 2,70	✓
TEMPERATURA	58,7782	2	29,3891	2209,70	> 3,09	✓
pH - S	0,2868	9	0,0318	2,39	> 1,97	✓
pH - T	0,2029	6	0,0381	2,86	> 2,19	✓
S - T	0,1218	6	0,0203	1,52	< 2,19	x
pH - S - T	1,0454	18	0,0580	4,36	> 1,68	✓
ERROR	1,2748	96	0,0133			
TOTAL	63,7851	143				

Antes, se mencionó que en la etapa posterior a la extracción se requiere concentrar el extracto, lo cual normalmente se realiza por calentamiento. En éste trabajo se propone aprovechar durante la fase de extracción, la misma energía que posteriormente será requerida para evaporar el disolvente. Aunque se presenta la necesidad de implementar un sistema de aislamiento térmico para evitar pérdidas de calor durante el proceso de extracción, su costo será bien justificado con la velocidad y eficiencia que resulta al conducir la extracción a una mayor temperatura.

La buena estabilidad térmica del ácido carminico¹⁵ permite manejar su extracción a temperaturas cercanas a 100°C, siempre y cuando no sea muy prolongado el proceso. Tal característica es su mayor ventaja sobre otros colorantes naturales como las antocianinas o las betalainas, que son más susceptibles a la degradación térmica. El límite de temperatura lo establece el disolvente; en nuestro caso, la proporción de etanol al 70% tiene un punto de ebullición cercano a 74°C, así que se propone utilizar una temperatura de 70 ±3°C durante el proceso.

* **pH:** Por comunicación personal[†] surgió la recomendación de evaluar el efecto de éste factor en el rango de neutro a alcalino, pues en su trabajo previo no observó una diferencia significativa en condiciones ácidas ó de neutralidad. En nuestros resultados (cuadro 9), se observa que al aumentar el pH disminuye la absorbancia del extracto. Se supone, la razón es que en pH alcalino, la estructura resonante del ácido carminico es más susceptible al ataque hidrolítico del agua, provocando la degradación del pigmento y por consiguiente una pérdida del color y disminución de la absorbancia del extracto.

La prueba contundente de la inestabilidad del pigmento en condiciones alcalinas, es la pérdida del color rojo característico del extracto, que después de 10 días de

[†] Chávez Moreno Carla Karina.⁵

almacenamiento cambió a color café; mientras que el extracto neutro en las mismas condiciones, no presentó a simple vista un cambio notable en su color. Por lo anterior, se elige el valor de pH 7 para la extracción. Este valor es muy cómodo, pues la mezcla de etanol al 70 % presenta un valor muy cercano a la neutralidad, y no requiere de un ajuste de pH previo a la extracción.

* **Surfactante:** La tendencia de la variación del surfactante es semejante a la tendencia que sigue la variación de tiempo de contacto: inicialmente se presenta un aumento constante en la absorbancia; después, la velocidad de extracción comienza a declinar y tiende hacia una absorbancia constante, independientemente de la concentración del surfactante. En el cuadro 9 se observa que la absorbancia (pH_1 y T_3) aumenta apreciablemente desde S_0 hasta S_2 . Con S_3 , aunque es ligeramente mayor la absorbancia, ya no parece conveniente utilizarla; pues implica una concentración del surfactante 10 veces mayor que S_2 , sin lograr con ello un aumento proporcional de la absorbancia. Por lo anterior se elige S_2 (0,01 %) para las condiciones finales de extracción.

• • • • •

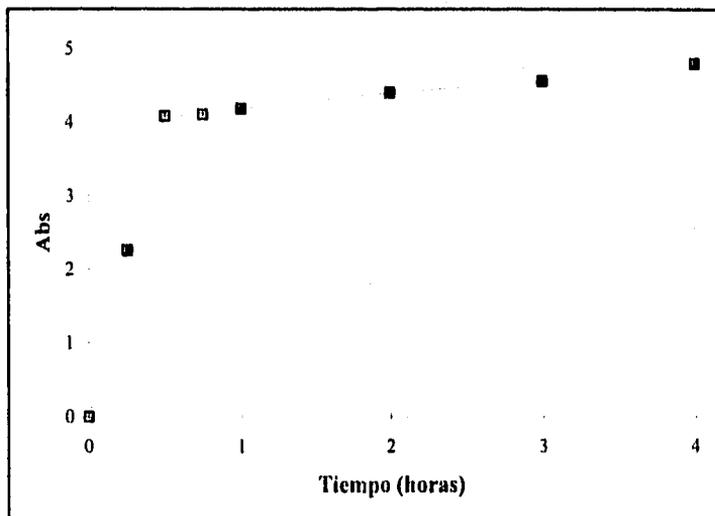
3ª Fase: Eficiencia de Extracción

* **Tiempo de contacto (reajuste):** El tiempo de contacto es un factor de gran importancia durante el proceso de extracción, pues está íntimamente relacionado con la eficiencia y el costo de la operación. En las condiciones preliminares se estableció un tiempo de contacto de 2 horas, pero al repetir la prueba en las nuevas condiciones experimentales, se decide utilizar 30 min para el tiempo de contacto en cada etapa. Los resultados se muestran en el cuadro 11 y se representan en la figura 6.

Cuadro 11. Absorbancia del extracto en función del tiempo de contacto en condiciones finales.

TIEMPO (horas)	ABSORBANCIA
0,25	2,26
0,50	4,08
0,75	4,10
1,00	4,18
2,00	4,40
3,00	4,56
4,00	4,80

Figura 6. Absorbancia del extracto en función del tiempo de contacto en condiciones finales.



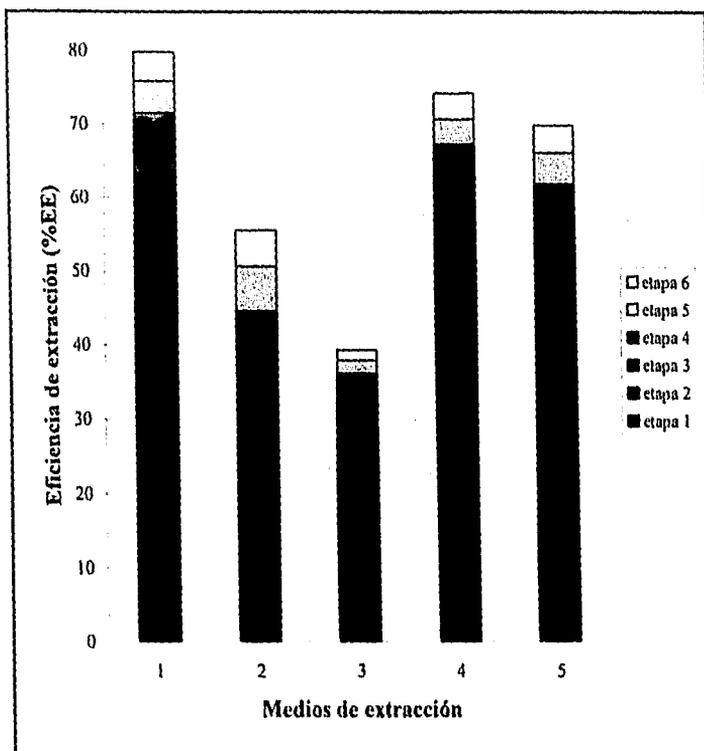
* **Eficiencia de extracción:** Los resultados de la prueba se presentan en el cuadro 12. En la figura 7 se grafica la eficiencia de cada uno de los medios de extracción.

Cuadro 12. Eficiencia de extracción (%EE) en cada etapa y acumulada, de cada uno de los medios de extracción: ①condiciones establecidas; testigo de temperatura = 20°C; ②testigo pH = 11,5; ③testigo surfactante = 0%; ④ testigo de disolvente = agua destilado.

		MEDIO ①	MEDIO ②	MEDIO ③	MEDIO ④	MEDIO ⑤
ETAPA 1	Abs	1,99	0,80	1,05	1,93	1,66
	%EE	40,8	16,4	21,5	39,6	34,0
ETAPA 2	Abs	0,75	0,56	0,39	0,67	0,67
	%EE	15,4	11,5	8,0	13,7	13,7
ETAPA 3	Abs	0,45	0,46	0,19	0,41	0,42
	%EE	9,2	9,4	3,9	8,4	8,6
ETAPA 4	Abs	0,30	0,35	0,13	0,27	0,27
	%EE	6,1	7,2	2,7	5,5	5,5
ETAPA 5	Abs	0,21	0,30	0,09	0,17	0,21
	%EE	4,3	6,1	1,8	3,5	4,3
ETAPA 6	Abs	0,20	0,24	0,07	0,17	0,18
	%EE	4,0	4,9	1,4	3,5	3,7
Σ %EE		80,0	55,5	39,4	74,4	70,0

ESTA TERCERA PARTE
VALIÓ EN LA INSTITUCIÓN

Figura 7. Eficiencia de extracción en cada uno de los medios: ①condiciones establecidas; ②testigo de temperatura; ③testigo pH; ④testigo surfactante; ⑤testigo de disolvente.



El medio ① corresponde a las condiciones establecidas, y resulta ser el más efectivo para la extracción del pigmento, pues se logra una eficiencia del 80 % en 6 etapas. El resto de los medios: ②③④⑤, al compararse contra el medio ①, sirven como testigos de cada uno de los factores evaluados.

Los resultados obtenidos en esta tercera fase de la experimentación, son congruentes con los resultados de la segunda fase; excepto en la comparación del disolvente, donde la eficiencia de extracción es ligeramente mayor con etanol al 70% (medio ①) que con agua (medio ⑤), en las condiciones finales (ver fig. 7). Lo anterior parece contradictorio de acuerdo con los resultados preliminares en la segunda fase, donde la mezcla de etanol al 70% a temperatura ambiente, presenta una menor capacidad de extracción que el agua puro (ver fig. 5). En esta situación, se deduce que el etanol en combinación con el aumento de la temperatura, provocan una desnaturalización más completa de las proteínas, favoreciendo la eficiencia de extracción del pigmento. Afortunadamente la mayor eficiencia con la mezcla de etanol 70 % significa un beneficio para el proceso, debido a las ventajas antes mencionadas de ahorro de energía y disolvente.

El empleo del surfactante (medio ④, fig 7) aparentemente no es factible, porque su eficiencia es muy semejante a la del medio ① en que no se utiliza. Sin embargo, una diferencia de 5% en proporciones industriales justificaría el uso de este aditivo, principalmente porque no implica un fuerte gasto adicional, ya que se requieren sólo 100 mg de SPAN 40 por cada litro de disolvente, y su disolución se facilita con la temperatura de trabajo (70 °C). A cambio, se obtiene una ganancia al extraer mayor cantidad de pigmento en un mismo lapso de tiempo.

Finalmente, se recomiendan cinco puntos que se consideran importantes para dar continuidad al tema y complementar los resultados del presente trabajo:

1° Enzimas proteolíticas: debido al alto contenido de proteínas en la materia prima, la extracción no alcanza su máxima eficiencia. Se sugiere evaluar el uso de

proteasas en una etapa previa ó durante el proceso de extracción, con lo cual se espera favorecer su eficiencia.

2° Surfactante: en éste trabajo se utilizó sólo una marca comercial de SPAN 40; su efecto resultó favorable, dando la pauta para probar otros surfactantes de actividad semejante, con el fin de encontrar alguno que logre un efecto más significativo en la eficiencia de extracción.

3° Extracción multietapas a contracorriente: la extracción en etapas simples que se utilizó en éste trabajo, no se considera representativa de un proceso industrial. Se sugiere estudiar la extracción a nivel piloto en etapas múltiples a contracorriente, y aplicando las condiciones aquí establecidas, para obtener resultados más representativos de un proceso a nivel industrial.

4° Evaporación: después de la extracción a nivel piloto, es importante definir las condiciones de evaporación del disolvente, para concentrar el extracto a un contenido de 1,8 % de ácido carmínico, y recuperar el etanol para ser reutilizado en el proceso.

5° Residuos: en cualquier proceso industrial, es importante tratar de aprovechar los subproductos que de él se deriven, para disminuir su costo y evitar descargas contaminantes al ambiente. Por lo tanto, se sugiere evaluar la calidad proteica del residuo sólido, con la intención de ser utilizado como complemento alimenticio animal, e incluso humano; con el antecedente de que las proteínas provenientes de los insectos son de buena calidad. También estudiar la factibilidad de recuperar la cera de cochinilla (cuyo contenido es aproximadamente del 2% con respecto del peso seco), como materia prima de alta calidad para cosméticos, o como recubrimiento de productos agrícolas, semejante al uso de la cera de candelilla.

CONCLUSIONES

- * Con base en los resultados de los parámetros evaluados, las condiciones que se consideran más adecuadas para la extracción del pigmento de la cochinilla son las siguientes:

Tiempo de contacto	30 minutos
Disolvente	Etanol 70% v/v
Temperatura	70°C
pH	7
Surfactante (SPAN 40)	0,01% p/v

- * El tiempo que se requiere para la extracción en cada etapa depende de las condiciones del medio (temperatura, pH, disolvente, etc.). Cuando la combinación de los diferentes factores provoca el aumento en la velocidad de extracción, se alcanza más rápido el equilibrio entre la muestra y el disolvente.
- * Como disolvente en condiciones preliminares, el agua puro es más eficiente; en cambio, en condiciones finales se combina el efecto de la temperatura y el etanol para lograr una mayor eficiencia de extracción.
- * La temperatura es el factor que tiene mayor influencia en la extracción del pigmento. Con el incremento de la temperatura aumenta la velocidad de extracción, y en consecuencia la eficiencia de extracción.

-
- * El ácido carmínico es más susceptible a la degradación en condiciones alcalinas que en medio neutro. Su efecto es más notorio después de algunos días de observación.
 - * La presencia del surfactante (SPAN 40), aunque tiene un efecto ligeramente favorable en la eficiencia de extracción, se considera que es suficiente para justificar su uso a nivel industrial.
 - * La interacción entre los factores: pH temperatura y surfactante, no influye de una forma significativa en la eficiencia de extracción.
 - * El uso de cochinilla silvestre como modelo experimental, resultó apropiado para estudiar de manera preliminar el efecto de los diferentes factores en el proceso de extracción.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Anónimo, (1983).** Estudio sobre la aplicación y comercialización de cochinilla y carmín de cochinilla. Ministerio de agricultura, pezca y alimentación. Estudios de planificación y técnica aplicada, S A. Madrid, España.
2. **Aquino, P. G. y Figueroa, S. B. (1994).** Perspectivas del cultivo de la cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa) en el altiplano potosino-zacatecano. Memoria, Aportaciones técnicas y experiencias de la producción de tuna en zacatecas. Zacatecas, México. p 66-75.
3. **Baduí, D. S., (1990).** Química de los alimentos. 2ª edición. Editorial Universidad. México.
4. **Bojorquez, I. E., (1990).** Anteproyecto de norma para extracto de cochinilla y carmín. Tesis de licenciatura. Facultad de Química, UNAM. México.
5. **Chávez, M. C. K., (1994).** Extracción del colorante rojo presente en la cochinilla (*Dactylopius coccus*). Tesis de licenciatura. Universidad Simón Bolívar, México.
6. **Del Río, D. I., (1992).** La importancia de la grana cochinilla y su uso como colorante en el mundo actual. Actas del II congreso internacional de tuna y cochinilla. Santiago Chile. p 181-185.
7. **Dyestuff commission, (1988).** Colours for foods. Second revised edition. Federal Republic of Germany.
8. **Francis, F. J. (1987).** Lesser-known food colorants. Food technology, 41: 1987, No 4. p 62-68.
9. **Furia T. E., (1972).** Handbook of food aditives. 2ª ed press, USA. vol 2.
10. **García, C. Z. y Reyes, Q. R., (1990).** Estudio de la estabilidad del colorante de la cochinilla y su aplicación en alimentos. Tesis de licenciatura. FES Cuautitlán. UNAM, México.
11. **García, G. M., Quintero, R. R. y López-Munguía, C. A., (1993).** Biotecnología alimentaria. 1ª edición. Editorial Limusa. México. p 479-493.

12. Geankoplis, C. J., (1978). Transport processes and unit operations. Allyn & Bacon. Boston.
13. Huasasquiche, S. P., Muñoz, A. W. Bustamante, M. O. F., (1977). Estudio toxicológico teratológico del carmín de cochinilla en ratas. Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga bajo el patrocinio de la empresa Zacarías Huaynas P. Industrias Químicas S. R. LTDA. Perú.
14. Instituto de Botánica, Universidad de Guadalajara, (1992). Introducción al teñido de lana con grana cochinilla. V congreso nacional y III internacional sobre el conocimiento y aprovechamiento del nopal. Universidad Autónoma Chapingo, México.
15. Kearsley, M. W. and Katsaboxakis, K. Z., (1980). Stability and use of natural colours in foods: red beet powder, copper chorophyll powder and cochineal. J. Food Technology 15, 501-514.
16. Loayza, H. N., (1983). Ácido carmínico y sus derivados. I seminario departamental de producción y fomento de la tuna y cochinilla. Universidad de San Cristobal de Huamanga. Ayacucho, Perú. p 81-87.
17. Lloyd, A. G., (1980). Extraction and chemistry of cochineal. Food chemistry. 5: 1980, No 1. p 91-107.
18. Lymayla, A. C. y Vidal, F. S., (1983). Aspectos químicos de la cochinilla. I seminario departamental de producción y fomento de la tuna y cochinilla. Ayacucho, Perú. p 71-80.
19. Marmión, M. D., (1991). Handbook of US colorants for foods, drugs, cosmetics and medical devices. Wiley Interscience, 3ª edición. USA.
20. Marten, Ch. R., (1964). Emulsion and water-soluble paints and coatings. Reinhold Publishing Corp. New York. chap. 6, p 4-57.
21. Medellín, S. M. X., (1994). Extracción de ácido carmínico a partir de la cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa) del nopal. Tesis de licenciatura. Departamento de ingeniería agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo, México.
22. Pérez, D. J. A., (1992). Anteproyecto de una planta procesadora de grana cochinilla para la obtención de sus principales derivados. Tesis de licenciatura, Escuela de Química. Universidad La Salle, México.
23. Perry, (1989). Manual del ingeniero químico, 6ª edición. Editorial Omega. México.
24. Piña, L., (1977). La grana o cochinilla del nopal. Monografía Lanfi No 1. México.

-
25. **Portillo, M. L., (1993).** Producción de cochinilla del nopal con tres diferentes densidades de población. Instituto de Botánica, Universidad de Guadalajara. Jalisco, México.
 26. **Santos, S. E., (1981).** Colorantes en la industria alimentaria. Inédito. UNAM, México.
 27. **Sharp, D. W. A., (1989).** Diccionario de química Miall. 1ª edición. Editorial Alhambra. España.
 28. **Thorpe, E., (1967).** Enciclopedia de química industrial. vol. 4, parte 2. University Society Inc. New York.
 29. **Turok, M., (1996).** Tintes del México antiguo. Revista arqueología mexicana. Ene, 26-33.
 30. **Vigueras, G. A. L., Portillo, M. L. y Flores, F. V. Y., (1993).** Influencia de los macro y microelementos aplicados a cladodios de opuntia *ficus-indica* sobre el desarrollo de la cochinilla. QUEPO, Sociedad peruana de cactus y suculentas. Vol. 7.
 31. **Walford J., (1980).** Developments in food colours. Applied Science Pub. London, England. p 210-212.
 32. **Contreras G., A. M; Fuentes C., G; Martínez G., F; Meza A., A; Mora D., S; Peña O., H; Quezada L., N., (1996).** Producción de carmín a partir de grana cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa). Tesina. Ciencias biológicas y de la salud. Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa, México.
 33. **Secretaría de Salud, (1991).** Ley General de Salud. México, D.F.
 34. **NOM-038-SSA1-1993.** Colorantes orgánicos sintéticos. Especificaciones sanitarias generales
 35. **NOM-119-SSA1-1994.** Colorantes orgánicos naturales. Especificaciones sanitarias.
 36. **NOM-118-SSA1-1994.** Colorantes inorgánicos. Especificaciones sanitarias.