



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE QUIMICA**

**“RESCATE DEL CONOCIMIENTO EN TORNO  
A LOS COLORANTES *NOCHEZTLI Y K’AXTP*”**

**T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
Q U I M I C A  
P R E S E N T A:  
BERTHA MARIA MERCADO BORRAYO**



**MEXICO, D.F.**



**EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUIMICA**

**2005**

0350239



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.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo reespecial.  
NOMBRE: Bertha María Mercado Borrayo  
FECHA: 21 de noviembre de 2005  
FIRMA: Bertha Ma. Mercado Borrayo

## JURADO ASIGNADO

Presidente Prof. García Manrique Consuelo  
Vocal Prof. Acosta Huerta Alejandrina  
Secretario Prof. Pérez Ramírez José Guadalupe  
1er Suplente Prof. Gracia Mora María Isabel  
2º Suplente Prof. Palma de la Cruz Agustín

Sitio donde se desarrollo la Tesis

Laboratorio de refinamiento de estructuras cristalinas

Instituto de Física

Universidad Nacional Autónoma de México

DIRECTOR DE TESIS

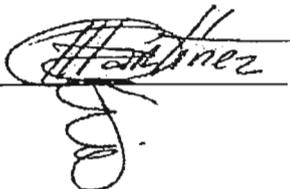
Dr. José Guadalupe Pérez Ramírez



---

SUPERVISOR TÉCNICO

Dr. Marcos Martínez García



---

SUSTENTANTE

Bertha María Mercado Borrayo

Bertha Ma. Mercado Borrayo

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México y su Facultad de Química por la oportunidad de formarme profesionalmente.

Al Instituto de Física de la UNAM por abrirme un espacio para investigar sobre un tema que forma parte de nuestra cultura.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por proveerme de recursos financieros y facilitar mi participación como ayudante de investigador en el proyecto: “Recuperación de tintes, tintas, pigmentos y barnices en el México Antiguo”.

Al Dr. Xim Bokhimi por su confianza, orientación y apoyo para la elaboración de mi tesis y por impulsar la realización de un sueño.

Al Dr. Marcos Martínez García del Instituto de Química por su valiosa asesoría y por mostrarme lo que significa trabajar en equipo.

A la Dra. Olga Araceli Patrón Soberano ya que sin su ayuda el desarrollo de la parte biológica no hubiera sido posible y por el soporte con los microscopios de fluorescencia y confocal.

A Antonio Morales Espino del Instituto de Física por su respaldo en el trabajo experimental.

Al M. en C. Manuel Aguilar Franco del Instituto de Física por los difractogramas.

A Diego Armando Quitevio Vargas del Instituto de Física por la preparación de muestras para el microscopio electrónico de barrido.

Al M. en C. Carlos Raúl Magaña Zavala y a Roberto Hernández Reyes del Instituto de Física por su ayuda en la toma de muestras de la micrografías del microscopio electrónico de barrido.

Al M. en C. Antonio Gómez Cortés del Instituto de Física por los espectros de infrarrojo.

A la Q. Alejandrina Acosta Huerta de la Facultad de Química por los espectros de resonancia magnética nuclear y de <sup>13</sup> Carbono.

A la Q. Eva Florencia Lejarazo Gómez de la Facultad de Química por su apoyo en la espectrofotometría de UV.

Al Biólogo Ramiro Cruz Durán de la Facultad de Ciencias (Herbario), por la identificación del *K'axti*.

A Dagoberto Tapia Ramírez del Instituto de Fisiología Celular por los cortes de *K'axti* y *Nocheztli*.

Al Dr. Fidel de la Cruz Hernández H. y al M. en C. Fernando Luis García Gil de Muñoz del CINVESTAV del Instituto Politécnico Nacional por sus invaluable enseñanzas sobre los aspectos biológicos de *Nocheztli*.

Al Dr. Jesús Ramírez Córdova del CIATEJ por sus orientaciones para localizar el colorante en *K'axti*.

A las señoras que conservan la tradición del teñido con colorantes naturales utilizados en el México antiguo, habitantes de la comunidad de Sta. Rosa de Lima, El Oro, Edo. de México, por trasmitirme sus conocimientos y por ser testimonio de una cultura ancestral.

# ÍNDICE

	PÁG
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO I.- ANTECEDENTES HISTÓRICOS</b>	<b>4</b>
1.1 LOS COLORES PREHISPÁNICOS	4
1.1.1 DE LOS COLORES	4
1.1.2 DEL COLORADO NO TAN FINO Y OTROS COLORES	5
1.2 <i>NOCHEZTLI</i>	6
1.3 <i>K'AXTI</i>	13
<b>CAPÍTULO II.- ANTECEDENTES BIOLÓGICOS</b>	<b>15</b>
2.1 COCHINILLA	15
2.1.1 MORFOLOGÍA	16
2.1.2 BIOLOGÍA Y COMPORTAMIENTO	17
2.1.3 COCHINILLA FINA Y COCHINILLA SILVESTRE	18
2.1.4 PLANTA HOSPEDERA	19
2.1.5 SISTEMAS DE PRODUCCIÓN	20
2.2 <i>K'AXTI</i>	21
2.2.1 TAXONOMÍA	21
2.2.2 GERMINACIÓN	22
2.2.3 DESCRIPCIÓN DE <i>CUSCUTA TINCTORIA</i>	23
<b>CAPÍTULO III.- COLOR</b>	<b>23</b>
3.1 DEFINICIÓN	23
3.2 COLOR Y ESTRUCTURA QUÍMICA	24
<b>CAPÍTULO IV.- COLORANTES</b>	<b>28</b>
4.1 DEFINICIONES	28
4.2 COLORANTES NATURALES	29
4.2.1 COLORANTES VEGETALES	29
4.2.2 COLORANTES ANIMALES	30

<b>CAPÍTULO V.- ANTRAQUINONA</b>	<b>31</b>
5.1 GENERALIDADES	31
5.1.1 ESTRUCTURA QUÍMICA	31
5.1.2 OBTENCIÓN DE LA ANTRAQUINONA	32
<b>CAPÍTULO VI.- TÉCNICAS DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL</b>	<b>33</b>
6.1 DIFRACCIÓN DE RAYOS X	33
6.2 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA	35
6.3 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB)	35
6.4 MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA	36
6.5 MICROSCOPIA CONFOCAL	36
6.6 ESPECTROSCOPIA DE DISPERSIÓN DE RAYOS X (EDS)	37
6.7 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO (IR)	37
6.8 ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)	38
6.9 ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA VISIBLE (UV-Vis)	39
<b>CAPÍTULO VII.- PARTE EXPERIMENTAL</b>	<b>40</b>
7.1 <i>NOCHEZTLI</i>	40
7.1.1 PROCESO DE PURIFICACIÓN DEL COLORANTE	40
7.1.2 EL COLORANTE EN EL INSECTO	45
7.2 <i>K'AXTI</i>	46
7.2.1 PROCESO DE PURIFICACIÓN DEL COLORANTE	46
7.2.2 EL COLORANTE EN LA PLANTA	50
<b>CAPÍTULO VIII.- ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>	<b>51</b>
8.1 <i>NOCHEZTLI</i>	51
8.1.1 PROCESO DE PURIFICACIÓN DEL COLORANTE	51
8.1.2 EL COLORANTE EN EL INSECTO	73
8.2 <i>K'AXTI</i>	78
8.2.1 PROCESO DE PURIFICACIÓN DEL COLORANTE	78
8.2.2 EL COLORANTE EN LA PLANTA	84
<b>CAPÍTULO IX.- CONCLUSIONES</b>	<b>86</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>88</b>

## INTRODUCCIÓN

En el México antiguo se emplearon diferentes clases de colorantes como *Nocheztli* (rojo) y *K'axti* (amarillo), que se obtenían de manera natural de material biológico; el primero del insecto *Dactylopius coccus* (cochinilla) que vive en el nopal y el segundo de la planta *Cuscuta tinctoria* que se hospeda en árboles como el pirul.

Ambos colorantes fueron de gran importancia en el México prehispánico, sin embargo, el *Nocheztli* adquirió particular relevancia durante la época colonial, su producción y comercio llegó a constituir en la segunda mitad del siglo XIX, una de las fuentes primordiales de riqueza de la Nueva España y de la Corona Española (sólo inferior a la generada por la plata), su declive obedeció principalmente a la introducción de colorantes sintéticos.

Cabe mencionar que en el mundo moderno, la cría y exportación de cochinilla ha cobrado un nuevo impulso en países como Perú, España (Islas Canarias) y Chile, ya que el ácido carmínico extraído del insecto, se ha convertido en materia prima para la industria farmacéutica, alimenticia, química y textil, en especial

En el México actual, la producción y utilización del *Nocheztli* y *K'axti* es mínima, en comparación con el auge que alcanzó en el México antiguo; el teñido de telas con colorantes naturales lo realizan varias comunidades indígenas con procedimientos artesanales, cuyos conocimientos se transmiten, entre sus miembros, por tradición oral.

Los objetivos de este trabajo son: Rescatar el conocimiento del *Nocheztli* y *K'axti*; se busca tender un puente entre los conocimientos antiguos y la química moderna, por tanto se pretende: 1) Determinar el método más eficiente para la obtención de ambos colorantes; 2) Caracterizar los colorantes obtenidos; y, 3) Verificar la pureza de los colorantes mediante diversas pruebas.

La hipótesis es: El conocimiento antiguo del *Nocheztli* y *K'axti* aplicado a procedimientos artesanales, puede ser rescatado con apoyo de la química moderna, mediante métodos que permitan la obtención de los colorantes en su forma más pura y con mayor rendimiento.

La metodología consistió en revisar y analizar la literatura relacionada con los procesos de obtención de los colorantes, investigar los procesos tradicionales de producción y teñido, y, mediante el trabajo experimental, buscar el método que abarque los siguientes puntos: a) Ahorro de tiempo; b) Ahorro de muestra y disolventes; y, c) Obtención de un mayor rendimiento.

Este trabajo de investigación se expone en nueve capítulos:

En el capítulo primero se presentan los antecedentes históricos de los colorantes, según se reseñan en textos clásicos como la Historia General de las Cosas de Nueva España de Sahagún<sup>1</sup>, la Memoria sobre la naturaleza, cultivo y beneficio de la grana de Alzate<sup>6</sup>, el Diario del viaje que hizo a la América en el siglo XVIII el Padre Ajofrín<sup>2</sup>, la Historia Natural de Nueva España de Hernández<sup>3</sup> y la Historia Verdadera de la Conquista de la Nueva España de Díaz del Castillo<sup>4</sup>.

En el capítulo II se revisan los aspectos biológicos del insecto y de la planta, nombre científico, clasificación, morfología y taxonomía, entre otras características.

El capítulo tercero aborda el estudio sobre la teoría del color desde el punto de vista químico, particularmente en su relación con el *Nocheztli* y *K'axti*.

En el capítulo IV se analizan las características de los colorantes provenientes de plantas y animales.

En el capítulo V se desarrolla el tema de los colorantes de la antraquinona, cuyo cromógeno aparece en todos los colorantes naturales de color rojo.

En el capítulo sexto se explican las principales técnicas de análisis instrumental: difracción de rayos X; microscopía: electrónica, de barrido, de fluorescencia, de confocal, que se utilizan en el análisis de materiales, ya que permiten observar en detalle muestras muy pequeñas; espectroscopia: de dispersión de rayos X, infrarrojo, resonancia magnética nuclear de protón y <sup>13</sup>Carbono; y espectrofotometría ultravioleta visible.

El capítulo VII, detalla los procedimientos experimentales de la obtención del *Nocheztlí* y *K'axtí*; los procesos de purificación de cada colorante, su caracterización mediante diversos métodos, los tipos de experimentos realizados para determinar el método que permita ahorro de tiempo, muestra y disolventes y por tanto, obtener mayor rendimiento; además, se describen las técnicas a las que se recurrió para ubicar el colorante en el insecto y en la planta.

En el capítulo VIII se analizan y discuten los resultados. Se determina el método que permite el mayor ahorro de tiempo, muestra y disolventes, y el de mayor rendimiento; se presentan los resultados de la caracterización de las muestras mediante diversas técnicas, se ofrecen indicios respecto al lugar donde se ubica el colorante en el insecto y en la planta.

Se cierra la exposición con el capítulo noveno referente a las Conclusiones.

## CAPÍTULO I.- ANTECEDENTES HISTÓRICOS

### 1.1 LOS COLORES PREHISPÁNICOS

Se revisan algunos colorantes que existieron en el México antiguo, en especial, *Nocheztl* y *K'axti* que ocuparon un lugar destacado. Cabe resaltar que los términos para designar colores en una lengua están dados por su propia estructura y por la cultura del grupo correspondiente, desafortunadamente, las lenguas expresadas en forma escrita como ideogramas dejaron de ser utilizadas con la conquista española y el lenguaje, en el mejor de los casos, hubo de ser trasladado al alfabeto latino, con lo que se perdió buena parte del contexto original de los conceptos.

#### 1.1.1 DE LOS COLORES

Sahagún en su Historia General habla de la grana, sus diferentes tipos, su relevancia comercial, así como del *K'axti* al que denomina *zacatlaxcalli* y otros colorantes considerados como finos, en los siguientes términos:

##### ∞ De la grana y de otros colores finos

“Al color con que se tiñe la grana llaman *nocheztl* que quiere decir, sangre de tunas, porque en cierto género de tunas se crían unos gusanos que llaman cochinillas, apegados a las hojas, y aquellos gusanos tienen sangre muy colorada; ésta es la grana fina. Esta grana es conocida en esta tierra y fuera de ella y hay grandes tratos de ella; llegando hasta la China y hasta Turquía, casi por todo el Mundo es preciada y tenida en mucho. A la grana que ya, está purificada y hecha en panecitos, llaman grana recia o fina, véndenla en los *tiánquez* hecha de panes, para que la compren los pintores y tintoreros.

Hay otra manera de grana baja o mezclada, que llaman *tlapalnextli*, quiere decir grana cenicienta, y es porque la mezclan con greda o con harina; también hay una grana falsa que también se cría en las hojas de la tuna, o *ixquimiliuhqui*, que daña a las cochinillas de la buena

grana y seca las hojas de la tunas donde se pone; también ésta la cogen para envolverla con la buena grana, para venderla, lo cual es grande engaño.

Al color amarillo fino llaman *xochipali*, quiere decir, tintura de flores amarillas; este color amarillo se cría en tierras calientes.

Al color azul fino llaman *matlalli*, quiere decir, azul; hácese de flores azules, color (que) es muypreciado y muy apreciable de ver.

Hay un color amarillo claro, que llaman *zacatlaxcalli*, quiere decir, pan de hierba que se amasa de unas hierbas amarillas, que son muy delgadas; son como tortillas delgadas y usan de ellas para teñir o pintar.

Hay un color colorado blanquecino que se llama *chiotl* (y) hácese en tierras calientes; es flor que se muele (y) es medicinal para la sarna; y si se mezcla con el unguento que se llama *axin*, se hace de color bermellón”<sup>1</sup>.

### 1.1.2 DEL COLORADO NO TAN FINO Y OTROS COLORES

Sahagún reseña otros tipos de colorantes provenientes de diversos materiales (piedra, humo, madera, arbustos, hierba o frutos), de menor valor comercial como las tintas que se utilizaban para teñir cueros o mantas, describe también algunos procesos para su obtención:

“Hay en esta tierra un árbol grande, de muchas ramas y grueso tronco, que se llama *uitzquáuitl* (que) tiene la madera colorada; de este madero, hendiéndolo, hacen astillas, y majánlo y remójánlo en agua, tiñen el agua y hácenla colorada, y este colorado no es muy fino, es como negrestino; pero revolviéndolo con piedra alumbre y con otros materiales colorados hácese muy colorado. Con este color tiñen los cueros colorados, y para hacerle que sea tinta negra mézclanle aceche y otros materiales negros, que revuelven con el agua, y hácese muy negra, y tiñen con ella los cueros negros.

Hay en esta tierra un fruto de un árbol que se cría en tierras calientes, que no es de comer, llamase este fruto *nacazcólol*, con el cual, y el aceche y otros materiales, se hace muy buena tinta para escribir.

Hay en esta tierra una mata o arbusto que se hace en tierras calientes, que se llama *tezóatl*; las hojas de esta mata o arbusto cuécense juntamente con piedra de alumbre y con *tláliac* y hácese un color colorado muy fino; *hase (sic)* de hervir mucho.

Hay una hierba en las tierras calientes que se llama *xiuhquilitl*; majan esta hierba y exprímenla el zumo, y échanlo en unos vasos, allí se seca o se cuaja; con este color se tiñe lo azul oscuro y resplandeciente, (y) es colorpreciado.

Hay un color azul claro, de color del cielo, que llaman *texotli* y *xoxóuic*; es color muy usado en las ropas que se visten, como mantas y *huipiles*; hácese de las misma flores que se hace el *matlalli*.

Hay una piedra amarilla que molida hace color amarillo, de que usan los pintores; llámanla *tezocáhuitl*.

Hacen estos naturales tinta del humo de las teas, y es tinta bien fina; llámanla *tilliócotl*; tiene para hacerla unos vasos que llaman *tlicomalli*, que son a manera de alquitaras; vale por muchas tintas para escribir, y para medicinas, mezclándolo con ellas.

Hay aceche que se llama *tláliac*; hácese en muchas partes y sirve para muchas cosas de teñir y hacer tinta”<sup>1</sup>.

## 1.2 NOCHEZTLI

Sahagún concede especial interés al *Nocheztli* (en particular en el capítulo denominado “DE LA GRANA Y DE OTROS COLORES FINOS”), obtenido a partir de la grana cochinilla, sus características, métodos de cría y sobre sus usos cotidianos escribe:

“De las dos mujeres la una se llamaba *Xiuhltali*, iba ataviada con un *huipil* azul y la otra que se llamaba *Xilo*, que era la menor, iba vestida con un *huipil* colorado teñido con grana; ambas tenían los *huipiles* sembrados de plumas ricas, de todo género de aves que crían plumas ricas”<sup>1</sup>.

De igual modo Ajofrín en su reseña sobre el viaje que hizo a la Nueva España en el siglo XVIII, se detiene en describir la forma en que se criaba la cochinilla y escribe que el comercio en Oaxaca es rico y opulento, entre otras razones, por el añil y la grana.

“Habiendo hecho mención del recomendable fruto de la grana y siendo esta provincia de Oaxaca la más famosa del orbe por sus crecidas cosechas y ventajosa calidad, no sería justo omitir lo que con singular cuidado y exquisita curiosidad observé sobre este animalejo admirable en todas sus circunstancias. Han pensado algunos que la grana o cochinilla era semilla de algún árbol, siendo en realidad animal viviente. Llamase cochinilla por cierta analogía con este insecto, bien conocido en la Europa, no porque se enrosque como la cochinilla, sino por la figura que hace una bolita redonda, aunque no tan grande como la cochinilla, pues cuando está en su mayor aumento no excede del tamaño de un grano regular de aljófara.

Este animalejo o gusanito se cría, nutre y crece en una mata silvestre, muy común en toda la América, que llaman nopal y en España, higuera de los Indias, por haber ido de aquí y por su fruto, a modo de higos con unos granitos dentro, aunque mayores [...] y aunque la cochinilla puede mantenerse en cualquier género del nopal, por basto y silvestre que sea, como sucede en la Mixteca, no obstante, para grana fina es preciso que el nopal sea también fino y se conoce en que tiene pocas espinas, pero muy sutiles, que aquí llaman aguates. La altura de estos nopales, dejando los silvestres por más corpulentos, no pasa regularmente de dos varas [...] cuando la nopalera es nueva, la grana es de mejor calidad, y por eso los nopales los arrancan y plantan de nuevo de ocho en ocho años, según la fertilidad de la tierra.

Cuál sea el temperamento más propio para la grana, es problema harto difícil, pues en esta provincia de Oaxaca, se cría fina y buena en cualquier temperamento, ya sea cálido en extremo, ya frío en sumo grado, o ya templado y benigno, pero, según los prácticos, el más apto es el más seco y templado, pues aquí se crían los nopales con más frondosidad y vicio.

El modo de criar la grana o cochinilla, que, según la frase de los naturales, se llama seminar o sembrar, es el más delicado y prolijo; de suerte que sólo la paciencia de los indios puede sufrir tanta impertinencia y cuidado. Para esto, por el mes de abril que es la primera siembra, van

poniendo en las pencas u hojas del nopal con gran tiento y singular arte, la semilla de la grana que es casi imperceptible y del tamaño de un pequeño liendre. El modo de poner la semilla es diverso, según las costumbres de los indios o variedad de temperamento. En unas partes van colocando por las ramas esta semilla, valiéndose de tablitas o palos muy delgados con que van dejando estas liendrecitas, que luego se pegan a las hojas y empiezan a chupar su jugo, y aunque al principio suelen mudarse de una parte a otra, lo regular es fijarse en un sitio, con la separación debida para que todas tengan que comer, y allí, sin véseles movimiento, van chupando la hoja hasta que llegan a su natural magnitud, que, como ya dije, es del grano y figura casi redonda de una perla de aljófar, y esto en el corto tiempo de dos meses. Cuando va creciendo cría sobre sí y escupe también a los lados un polvito blanco como harina, aunque el interior de la cochinilla es un humor encarnado y rojo tan fino como se deja entender.

Otro modo he visto de semillar que sin duda es más fácil, aunque se pierde alguna semilla. Echan en un zurroncito de hierba seca, que llaman pascle, la semilla que les parece necesita el nopal. Según su magnitud; ponen el pascle entre las hojas del nopal, y van saliendo poco a poco a ocuparla, extendiéndose por todo él, aunque se cae alguna semilla que se pierde.

A los dos meses de esta primera siembra, cuando está en su punto la cochinilla, empieza la segunda siembra sin trabajo ni cultivo alguno, pues la misma cochinilla va produciendo allí sus hijuelos o liendrecillas que luego se van esparciendo por las ramas y colocándose cada cual en su sitio fijo, hasta que a los dos meses crecen como sus madres, y aun también semillarán en el nopal, si lo permitieran los fuertes aguaceros y mal temporal que ya se experimenta por este tiempo en toda la provincia, con que es preciso quitar la grana toda y, apartando la que ha de servir para semillar el año que sigue, del modo que ahora diré, la restante la matan y curan para vender.

Según lo dicho hasta aquí, son dos los frutos que se cogen al año. El primero por el mes de junio, y entonces con una pluma se van cogiendo las madres, con gran tiento para que no caigan sus hijuelos, en *hollas (sic)* de barro para curarlo. El segundo por agosto, cogiendo madres e hijuelos, si el tiempo ha dado lugar a ello, y aquí es donde se separan las madres cuya semilla ha de servir para el año siguiente.

Esta separación se hace así: cogen las madres que les parece, las ponen en una cesta bien forrada para que no se vayan y aquí van produciendo la semilla y después mueren, luego que tienen la semilla algún movimiento, la llevan a la nopalera para sembrar.

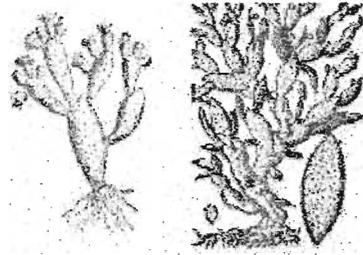
Lo que no se reserva para este efecto de sembrar lo curan para vender de tres modos: con agua caliente, con fuego lento o al sol, todo con mucho temperamento y pulso, pues de aquí depende su mayor o menor calidad. De los tres modos, el último, que es matar la cochinilla al sol aunque muy lento, es el mejor para su bondad”<sup>2</sup>.

La cochinilla fue muy apreciada en la época prehispánica, se teñían con sus productos las prendas de la alta sociedad, debido a la importancia del color rojo en esa época, ya que solía representar los rayos del sol, el fuego, la sangre, a varios de los dioses principales, los puntos cardinales; también era útil para decorar códices y murales.

El científico español Francisco Hernández, médico de la corte de Felipe II, emprendió en la Nueva España la realización de un catálogo de las riquezas naturales del nuevo territorio en poder de la Corona Española. Encontró que entre tales riquezas se encontraba la grana de Indias o cochinilla, cuya producción constituye un gran avance dentro de la industria de las tinturas. En apartado referente al *NOPALNOCHEZTLI*, dice:

“Se encuentran entre los mexicanos, en cierto género de tunas llamado *Nopalnocheztli* y que por esta razón se siembra en lugares defendidos por la naturaleza contra los perjuicios del ganado y de los jumentos, unos gusanillos redondos, blancos por fuera y color escarlata por dentro, que a veces por industria humana aplicando en determinado tiempo a las tunas semillas del año anterior; los indios los llaman *Nocheztli* y nuestros compatriotas cochinilla, nombre derivado quizá de *coccum* o grana del cual son una especie. Juzgan algunos que estos gusanillos son cosa distinta; mas aunque no ignoro que la grana de nuestro Viejo Mundo no está adherida a la tunas, que allí casi no existen, sino a las hojas de cierta encina que los modernos llaman coscoja; que no tiene propiedades astringentes y que su parte interna es llamada por su excelencia quermes o quermesí, en tanto en su parte exterior, que es más común, conserva la denominación griega, sin embargo, como unos y otros gusanillos, sirven igualmente para teñir las lanas de color escarlata y son industrialmente usados por pintores y

tintores, tengo por cierto que debe clasificarse en el género del cocum o grana, de donde, como dijimos, le vino tal vez el nombre español, así como también los que entre los peruanos nacen en las raíces de la planta llamada pampínula o teucurio.



*Nopalnocheztli*

**Figura 1. Nopalnocheztli**

Se saca del *Nocheztli* un color purpúreo a veces, a veces escarlata, según la manera de prepararlo. Se obtiene sumamente exquisito si se muele con el cocimiento del árbol *tézhatl*, del que en su lugar hablaremos, agregándole alumbre y recogiendo el sedimento, que se guarda en forma de pastillas, se estríñe molido con vinagre y aplicado como emplasto, alivia las heridas, fortalece el corazón, la cabeza y el estómago, y limpia muy bien los dientes. La antigüedad usó la sangre de las púrpuras, contenida en ciertas venas de su garganta, para teñir las lanas y dar a las vestiduras el esplendor fenicio. Pero desde hace mucho tiempo cayó en desuso dicha tintura, que acaso alguna vez buscará de nuevo el mundo, nunca saciado con nuevos inventos, siempre variable e inquieto”<sup>3</sup>.

Llamó la atención a Bernal Díaz de Castillo el intenso comercio de la cochinilla en los mercados, quien al referirse al tianguis de Tlatelolco relata:

“[...] y vendían mucha grana debajo de los portales que estaban en aquella plaza”<sup>4</sup>.

Francisco de Ajofrín escribe sobre la grana que se vende en Oaxaca lo siguiente:

“En todos los pueblos de esta Alcaldía, se coge rica grana en que tienen sus utilidades los Alcaldes mayores por las compras que hacen a los indios[...], su comercio es crecido y opulento, este precioso fruto enriquece la provincia [...]y aunque algunos indios viven pobres[...] sin duda, son los más poderosos y ricos de toda América”<sup>2</sup>.

La cochinilla se difundió rápida y ampliamente en Europa. Según León Diguét, en su libro “Las cactáceas útiles de México” publicado en Francia en 1928, la primera exportación de cochinilla a Europa se efectuó en 1523, dos años después de consumada la conquista en Tenochtitlan; se podrían citar varios textos que hablan del auge de *Nocheztli* en Europa, baste saber que entre los hechos relevantes se tiene que se convirtió en el segundo artículo de exportación de la Nueva España, después de los metales preciosos; además fue introducido vía a España a toda Europa y en Francia los hermanos Gobelin aprovecharon el colorante en la fabricación de sus tapetes.



**Figura 2. Papa Paul II**

En Europa, (antes de la cochinilla) la realeza y altos mandos de la iglesia usaban prendas de un color púrpura que desapareció con la caída de Bizancio en 1453. Después se utilizaron diferentes colorantes rojos, cuyo mercado se desplomó con la llegada de la cochinilla de América; incluso, el Papa Paul II decretó que los mantos de los cardenales, anteriormente coloreados de púrpura, deberían de ser coloreados con el color rojo cochinilla. En el siglo XVI se usó la cochinilla de América en escala masiva, una idea de su magnitud la puede proporcionar el hecho de que en Sevilla se tenían bodegas que almacenaban 11 toneladas de cochinilla.



**Figura 3. Tinción con cochinilla en Europa**

El gran auge de la cría y comercio de la cochinilla a raíz de la conquista española se fortaleció con el impulso de la industria textil en Europa que contribuyó a incrementar la riqueza del Imperio Español quien fue perdiendo el monopolio del colorante.

Dahlgren considera que el declive del cultivo de cochinilla inició con la cruel explotación de los indígenas, el desmedido afán de lucro de los comerciantes que propiciaban la adulteración de la grana, así como por intrigas políticas.

“A principios de la época colonial, es decir, hacia 1550, el fuerte incremento del cultivo de la grana se tradujo en una era de prosperidad para los indígenas, especialmente en Tlaxcala y en las costas de Oaxaca. Sin embargo, un desenfrenado afán de lucro de los intermediarios se tradujo por un lado en una inicua explotación indígena, y por otro, en una serie de adulteraciones de la grana, primero en los mercaderes locales y, con el tiempo, también en los puertos de importación, intrigas políticas entre los diferentes poderes de la Nueva España deben, sin duda, agregarse a la lista de los factores negativos que, a la larga acarrearán consecuencias nefastas para un monopolio español que pudo haber sido gran fuente de prosperidad tanto para los indígenas como para los comerciantes”<sup>5</sup>.

Se promulgaron diversas leyes con el fin de evitar fraudes cometidos por la adulteración de cochinilla fina al ser mezclada con cochinilla silvestre, ceniza, greda, harina y otras sustancias.

Un libro que se debe citar cuando se estudia el *Nocheztli* es el de Alzate<sup>6</sup>, debido a que contribuyó a dilucidar la controversia científica que se suscitó respecto a la clasificación de la cochinilla. Cabe resaltar que aunque algunos cronistas españoles del siglo XVI, por retórica, hablaban del “preciado fruto”, pocos dejaban lugar a duda de que en verdad se trataba de un insecto. Sin embargo, se creó la costumbre de llamar “grana” y “semilla” a la cochinilla, durante casi dos siglos la gran mayoría de los compradores europeos creía que se trataba de una semilla vegetal, situación que convenía a España, ya que permitía salvaguardar el secreto de su monopolio, con mayor eficacia que la estricta prohibición sobre exportación de insectos vivos.

Alzate protestó por lo superficial de los juicios y en 1777, inició el estudio de la cochinilla que llegó a constituir una de sus investigaciones más notables, abarca el tema en aspectos zoológicos, botánicos y comerciales, se basa en observaciones propias y en diversos informes manuscritos.

La entrada al mercado de colorantes sintéticos como las anilinas en 1857, la fórmula desarrollada por Hofmann en 1878 para hacer rojos sintéticos para el teñido de la lana, la utilización del rojo congo en 1884 a bajo costo, la alta consistencia en el color y la gran durabilidad para teñir el algodón, contribuyeron a bajar el consumo de *Nocheztli* en México y en Europa y se inició el desplazamiento de la cochinilla.



**Figura 4. Usos de Nocheztli**

En la actualidad, *Nocheztli* se continúa utilizando en la industria textil, farmacéutica, alimenticia, en la producción de cosméticos, en la investigación química y biológica. Comercialmente su nombre es Natural Red 4.

En México existen dos centros de venta de cochinilla, uno ubicado en el Estado de México y otro en Oaxaca; no se producen internamente cantidades suficientes para satisfacer las demandas de las grandes industrias.

Se observa un renovado interés para que nuestro país recupere el lugar que tuvo en la producción y comercialización de cochinilla y sus colorantes; también se ha revitalizado el interés en los aspectos científicos del insecto.

### 1.3 K'AXTI

Existe poca evidencia documental sobre la producción, uso e importancia económica del *K'axti* en el México antiguo.

Sahagún refiere que al *K'axti* se le conocía como pan de hierba:

“Hay un color amarillo claro que llaman *zacatlaxcalli*, quiere decir pan de hierba, que se amasa de unas hierbas amarillas, que son muy delgadas, son como tortillas delgadas y usan para teñir o pintar.

Mezclado el color amarillo, con color azul claro que se llama *texotli*, y con *tzacutli*, hácese un color verde oscuro que se llama *yapalli*; mezclando grana colorada con alumbre, y con *tzacutli* se hace color morado, mezclando azul claro con amarillo, echando más parte de amarillo, se hace un color verde claro, fino”<sup>1</sup>.

Hernández describe al *K'axti* de una forma más precisa, sus características físicas, usos y formas de obtención, también le llama *zacatlaxcalli*:

“No está constituido de partes que puedan describirse, sino que a modo de cabellos o filamentos se enreda a casi cualesquiera árboles. Al nacer es verde, se vuelve después amarillo y adquiere por último color rojo. Cuando está maduro se arranca de los árboles en que nace, se machaca y se le da forma de conchas, de donde toma el nombre. Maceradas éstas en agua (a la que se agregan alumbre y nitro) y modeladas en forma de conchas, sirven a los pintores para dar a sus pinturas el color amarillo; los tintores las usan para teñir de amarillo las lanas o los hilos de seda, mezclándoles yeso cuando quieren dar un color más claro. Nace en regiones muy cálidas y toma vida, como dijimos en los árboles”<sup>3</sup>.

En estudios sobre plantas mexicanas, se le caracteriza como una planta parásita: “*zacatlaxcali*, *zacatlaxcalli*, *K'axti*. Planta parásita que consta de tallos filiformes, amarillos-rojizos, sin hojas, que se adhieren por medio de chupones a las ramas de diversas plantas; sus flores son blanquecinas, pequeñas y agrupadas a lo largo de los tallos”<sup>7</sup>.

La literatura de la historia del *K'axti* es escasa, no existe suficiente información sobre la biología de la planta, ni de sus características químicas, sin embargo, la tradición oral indígena nos permitió conocer los procedimientos de obtención y utilización en el teñido de textiles, lo que nos permite inferir las formas de producirlo y utilizarlo en el México antiguo.

## CAPÍTULO II.- ANTECEDENTES BIOLÓGICOS

Se tratarán de forma general los aspectos biológicos del insecto y de la planta de los cuales se obtienen, respectivamente, los colorantes *Nocheztl* y *K'axti*.

### 2.1 COCHINILLA

El nombre científico del insecto del que se obtiene el *Nocheztl*, es *Dactylopius coccus*, cuyos nombres comunes son cochinilla de nopal, grana, cochinilla fina, cochinilla silvestre, cochinilla del carmín, o simplemente cochinilla (del latín *coccinos* que significa escarlata).

Su clasificación ha registrado continuas modificaciones. En 1758 Linneo la llamó *Coccus cacti*; en 1939 Burmeister la describió como *Pseudococcus cacti*; en 1835 O. Costa la clasificó como *Dactylopius coccus*<sup>8</sup>, nombre que se ha mantenido hasta nuestros días, con la siguiente taxonomía<sup>10</sup>:

Reino: Animal  
Phyllum: Arthropoda  
Subphyllum: Mandibulata  
Clase: Insecta  
Orden: Homoptera  
Suborden: Sternorrhyncha  
Superfamilia: Coccoidea  
Familia: Dactylopiidae  
Género: *Dactylopius*  
Especie: *Dactylopius coccus*

El insecto es dimorfo (hembra y el macho son morfológicamente diferentes), puesto que las hembras tienen metamorfosis incompleta y los machos completa, por consiguiente, los estados inmaduros de éstos se denominan larvas y en el caso de las hembras se conocen como ninfas.

### 2.1.1 MORFOLOGÍA

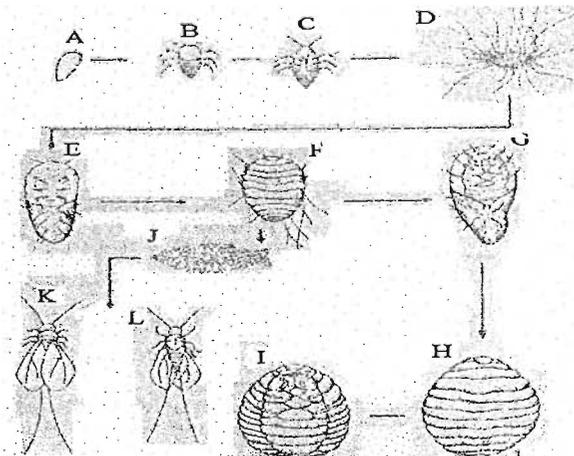
Se han diferenciado algunos cambios morfológicos de la hembra desde la fase de huevo, sus cambios a ninfa I y ninfa II, hasta su constitución como hembra.

Huevo. Es ovalado con los bordes redondeados, de color rojo claro cuando está recién depositado, después cambia a color rojo intenso. La superficie es lisa y brillante. En promedio mide 0.7 mm de longitud y 0.3 mm de ancho.

Ninfa I. Su cuerpo oval, alargado, de color rojo; recién emergida mide en promedio 0.85 x 0.35 mm. Sus antenas son de seis segmentos. Tiene tres pares de patas largas y delgadas, su abdomen es de ocho segmentos bien definidos, que se angosta hacia el final.

Ninfa II. Su cuerpo es ovoide, de color rojo oscuro. Mide en promedio 2.2 mm de longitud y 1.2 mm de ancho. En este momento se cubre de cera su cuerpo.

Hembra. Su cuerpo es ovoide de color rojo, similar al de la ninfa II; después de mudar es plano. Conforme transcurre el tiempo adquiere forma oval, con el vientre plano y el dorso convexo. Las antenas y las patas no sobresalen de los márgenes laterales del cuerpo. La superficie del cuerpo está cubierta con abundante cera de color blanco. Cuando está completamente madura sus medidas son 4.5 mm de longitud y 3.0 mm de ancho.



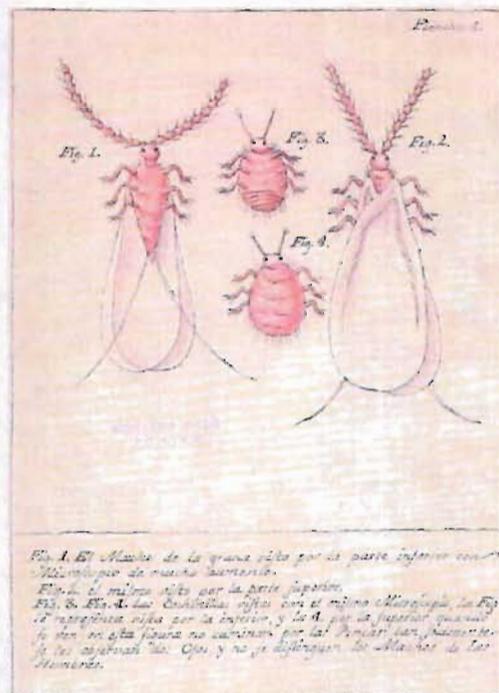
**Figura 5. Ciclo biológico de la cochinilla** A) Huevo, B) Vista dorsal, C) Vista de ninfa migrante I, D) Ninfa I establecida, E) Muda a ninfa II, F) Ninfa II, G) Muda a hembra adulta, H) Vista dorsal, I) Ventral de hembra adulta, J) Capullo de macho, K) Vista dorsal y L) Ventral de macho adulto.

Por su parte, el macho se describe de la siguiente forma:

Macho. Tiene un par de alas blancas bien desarrolladas y de bordes redondos; mide aproximadamente 2.2 mm de ancho por 4.8 mm de expansión alar; es frágil y sólo vive tres días en promedio en estado adulto<sup>9</sup>.

### 2.1.2 BIOLOGÍA Y COMPORTAMIENTO

Después de la fecundación, el volumen del cuerpo del insecto aumenta considerablemente. El desarrollo embrionario se inicia en el interior del cuerpo de la madre, por lo que en general hay preinfas dentro de la hembra. La fecundidad varía con el tamaño de la hembra; se estiman 100 huevos viables por hembra, aproximadamente. Al principio los huevos son depositados en forma individual y después de manera continúa, algunos huevos se mantienen unidos y forman cadenas cortas. A medida que la hembra tiene los huevos, va perdiendo los filamentos y la capa de cera, el cuerpo adquiere un color grisáceo; al terminar la ovoposición el cuerpo queda contraído, deshidratado y negro.



**Figura 6. Morfología macho y hembra**

Una característica de la ninfa I es que, en la primera fase, conocida como ninfa estacionaria, permanece en un lugar o se desplaza poco; posteriormente tiende a dispersarse, este periodo se

denomina ninfa migrante; son atraídas por la luz, aunque para establecerse buscan lugares sombreados, introducen sus estiletes en el tejido vegetal y comienzan a alimentarse: a partir de este momento, ya no hay desplazamiento.

Su ciclo de vida es de tres meses en promedio, se observa una gran variabilidad en cuanto a la proporción de sexos, aunque es común encontrar dos hembras por cada macho.

### 2.1.3 COCHINILLA FINA Y COCHINILLA SILVESTRE

La diferencia entre la cochinilla fina (cultivada) y la cochinilla silvestre (corriente) reside en la cantidad de colorante producido, atribuible a la genética del insecto. Las antiguas culturas de México, conocieron las diferencias entre ambos tipos de cochinilla, los cuales han sido objeto de constantes modificaciones taxonómicas.

Como se mencionó, en 1839 Burmeister, describió la cochinilla fina como *Pseudococcus cacti*; sin embargo, O. Costa cuatro años antes, en 1835, ya la había denominado *Dactylopius coccus*, nombre que ha predominado hasta nuestros días, es la especie utilizada para obtener el carmín y es la única cochinilla conocida como cultivada o fina. Las especies restantes forman un grupo de cochinillas denominadas silvestres o corrientes. México tiene cinco tipos de cochinillas conforme se aprecia en la Tabla 1

**Tabla 1. Especies de cochinillas reportadas en México**

1. <i>Dactylopius ceylonicus</i>
2. <i>Dactylopius coccus</i>
3. <i>Dactylopius confusus</i>
4. <i>Dactylopius opuntiae</i>
5. <i>Dactylopius tomentosus</i>

Suele denominarse a la cochinilla como *Coccus cacti*, aun en bibliografía reciente como las enciclopedias y diccionarios; también es común que se confunda la cochinilla fina, con la silvestre.

#### 2.1.4 PLANTA HOSPEDERA

Los nombres que recibían los nopales hospederos de la cochinilla eran *nopalli*, *nopalnocheztili* y *nocheznopalli*.

“Hay unos árboles en esta tierra que llaman *nopalli*, quiere decir tunal o árbol que lleva tunas; es monstruoso este árbol, el tronco se compone de las hojas y las ramas se hacen de las mismas hojas; las hojas son anchas y gruesas, tienen mucho zumo y son viscosas; tienen espinas las mismas hojas”<sup>1</sup>.

En la actualidad se considera que las plantas hospederas de la cochinilla son exclusivamente cactáceas del género *Opuntia*. Las especies conocidas como hospederas de la cochinilla fina suman once en total, mientras que para la cochinilla silvestre los hospederos son 52<sup>10</sup>.

**Tabla 2. Especies hospederas de la cochinilla fina**<sup>10</sup>

Nombre	Nombre común
<i>Opuntia atropes</i>	Nopal blanco
<i>Opuntia crassa</i>	Nopal
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Manso, de castilla, italiano
<i>Opuntia incarnadilla</i>	Nopal
<i>Opuntia filiginosa</i>	Nopal
<i>Opuntia jaliscana</i>	De azúcar, chamacuelo
<i>Opuntia pilifera</i>	Nopal
<i>Opuntia sacra</i>	Nopal
<i>Opuntia tomentosa</i>	San Gabriel
<i>Opuntia undulata</i>	Oreja de elefante
<i>Opuntia cochinillifera</i>	Nopalillo, lengua de vaca

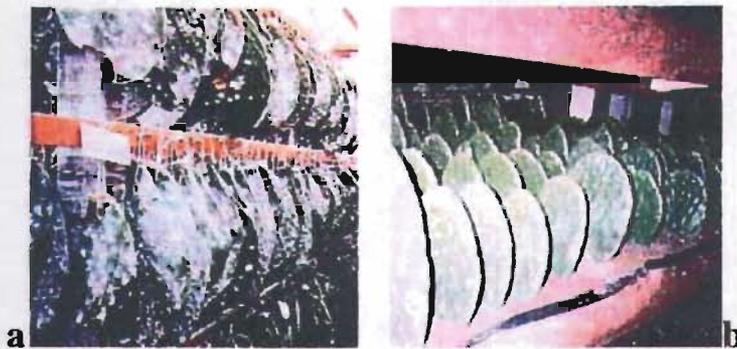
La familia *Cactaceae* tiene su origen en América. México es el país con la mayor diversidad de cactáceas, entre ellas destacan los nopales (*Opuntia* ssp.) con más de 110 especies. La especie más común en los cultivos de cochinilla fina es *Opuntia ficus-indica*.

### 2.1.5 SISTEMAS DE PRODUCCIÓN

En nopaleros bajo condiciones de temporal, la infestación se realiza en la cara de la penca opuesta a la insolación, de preferencia en los días sombreados, sin lluvia y sin viento, cuando las plantas tienen de cinco a seis años de edad, en sistemas de riego, las plantaciones se infestan a los dos años.

Cuando el cultivo es a cielo abierto, existen factores, como los climáticos y depredadores naturales, que pueden terminar con la producción; para reducir el riesgo, a partir de los años sesenta se instrumentaron nuevos métodos de producción.

La cría de la cochinilla (coccinocultura) en ambientes semicontrolados, se efectúa sobre pencas cortadas que después de ser infestadas se mantienen colgadas, se sostienen en cajones que pueden contener algún material para fijar la penca, mediante una red formada con rafia o algún otro material, en cuyos espacios se colocan las pencas.



**Figuras 7 a y b. Formas de cultivo de cochinilla**

Las pencas cortadas se protegen de distintas maneras, que varían considerablemente de acuerdo con las condiciones de cada región; en la medida en que los ambientes sean más controlados, será posible obtener más generaciones de cochinilla durante el año. Estas pencas suelen ser colocadas en cobertizos o microtúneles, en los invernaderos para que el ambiente sea semicontrolado.

### 2.2 K'AXTI

El *K'axti* se obtiene de una planta parásita del género *Cuscuta* perteneciente a la familia *Cuscutaceae*; comprende aproximadamente 170 especies de distribución amplia en el mundo,

particularmente en las zonas tropicales y templadas. En México se encuentra representado por aproximadamente 40 especies<sup>11</sup>.

Las plantas parásitas forman órganos de absorción especializados llamados haustorios, que constituyen un puente fisiológico y morfológico entre el parásito y el hospedante; el haustorio es un órgano especializado de absorción, a través del cual el agua y los nutrientes se transfieren del hospedante al parásito.

Las especies del género *Cuscuta*, son parásitas de una gran variedad de plantas herbáceas y leñosas a las cuales suelen infringir un daño de enorme magnitud, de tal modo que en algunas regiones se les ha declarado como plaga de interés agronómico, ya que además del perjuicio directo al huésped, pueden constituir un vehículo para el establecimiento de otras plagas y enfermedades adicionales.

Una sola planta puede atacar diferentes hospedantes al mismo tiempo, lo que indica su gran adaptabilidad fisiológica. Hay distintos grados de tolerancia al ataque de *Cuscuta* desde plantas que no se ven seriamente perjudicadas, hasta las que mueren.

Para el desarrollo del hábito parásito en *Cuscuta* se cumple con los siguientes puntos:

1. Pérdida de las raíces terrestres.
2. Evolución de haustorios absorbentes de agua, asociados con la pérdida de las hojas y el desarrollo de un tallo fotosintético.
3. Pérdida de clorofila.

### 2.2.1 TAXONOMÍA

Las *Cuscutas* son enredaderas de tallos delgados, amarillos o anaranjados, generalmente aclorófilos y en ellos se desarrollan haustorios. Las hojas se ven reducidas a pequeñas escamas.

Algunas especies han sido estudiadas desde el punto de vista médico y se ha encontrado que pueden tener efectos antitumorales, anti-inflamatorios, antiartríticos, colinérgicos y tranquilizantes<sup>11</sup>.

En la etnobotánica mexicana se menciona como plantas medicinales de Veracruz y Yucatán para el tratamiento de enfermedades hepáticas y tuberculosis.

### 2.2.2 GERMINACIÓN

Las semillas se liberan pasivamente; la temperatura óptima de germinación se ubica entre los 25°C y los 28°C. Después de la germinación de la semilla, el tallo constituido por un delgado filamento anaranjado, se prolonga rápidamente hasta hacer contacto con la planta hospedante; si esto no se logra, adquiere un color verde y sólo sobrevive unos días.

Las plántulas de *Cuscuta* carecen de hojas, consisten de un tallo fino; un extremo sirve para absorber agua y como ancla para que el tallo se enrede en el hospedante, pierde contacto con el suelo y vive completamente a expensas de él; muere en caso de no encontrar un hospedante adecuado.

### 2.2.3 DESCRIPCIÓN DE *Cuscuta tinctoria*

El género usado para pintar es *Cuscuta tinctoria*, se localiza, principalmente, en el valle de México en los municipios de Teoloyucan, Zumpango, Teotihuacan, Tultitlán y Ecatepec; muestra una marcada preferencia para hospedarse en el pirul. Sus tallos son de 0.2 a 2.5 mm de diámetro, sus flores lisas de 4 a 5.5 mm de longitud. Las semillas pueden permanecer en el suelo durante 10 o 20 años y no requieren estímulos de la planta hospedante para germinar. El fruto es una cápsula globosa u ovoide<sup>11</sup>.

## CAPÍTULO III.- COLOR

### 3.1 DEFINICIÓN

La teoría del color se podría abordar desde diferentes ángulos como el físico y/o el fisiológico; sin embargo, para los efectos de esta tesis sólo se tratarán los aspectos químicos pertinentes.

Durante años, los químicos intentaron encontrar la relación entre el color y la constitución química de los compuestos. En el siglo XIX se publicó la estructura de Kekulé para el benceno (1865) y sólo se conocía la estructura de la *p*-benzoquinona aunque habían empezado las investigaciones sobre los principales colorantes naturales (alizarina e índigo).

En 1867 Graebe y Libermann al estudiar la relación entre el color y la estructura química, encontraron que la reducción de los colorantes destruía rápidamente el color y dedujeron que los colorantes eran químicamente insaturados.

El color aparecía siempre como consecuencia de la acción conjunta de dos agrupaciones atómicas diferentes, a las que se nombró cromóforos y auxocromos.

Los cromóforos (del griego portador de color), son la causa inmediata de la aparición de color; entre los principales grupos cromóforos, se encuentran el azo (-N=N-), el carbonilo (-C=O), el carbimino (=C-NH), el carbino (=C-N-), el nitro (-NO<sub>2</sub>), el nitroso (-N=O), el etileno (=C=C=), el tiocetónico (=C=S), el disulfuro (-S=S-), la arilmetina (Ar-CH=), la metina (-CH=), la iminoquinona (-N=Ar) y la quinona (O=Ar).

Los cromógenos (generadores de color), son compuestos que contienen uno o más grupos cromóforos.

El grupo auxocromo proporciona al colorante afinidad por la fibra; los grupos auxocromos más importantes son; el amino y sus derivados (-NH<sub>2</sub>, -NHR, -NR<sub>2</sub>), el hidroxílico y sus derivados (-OH y -OR), el carboxilo (-COOH), el sulfuro (-SR) y el sulfónico (-SO<sub>3</sub>H)<sup>12</sup>.

Armstrong en 1887, propuso la “teoría quinónica” del color, según la cual, los colorantes tiene la estructura de las quinonas con uno o dos átomos de oxígeno sustituidos por otros grupos. La estructura de la quinona es la causa del color y éste desaparece si tal estructura se destruye, como ocurre cuando los colorantes se tratan con un reductor que los transforma en “leucoderivado”, es decir, un derivado incoloro y saturado.

Baeyer, Bali y Waston suponen el tautomerismo como responsable del color, en cambio Hewitt y Mitchell lo relacionan con la conjugación de los dobles enlaces. Adams y Resentein propusieron que las oscilaciones electrónicas causaban la absorción de radiación visible. Fue hasta 1935 que Bury destacó la relación del color con la resonancia del compuesto, siendo esta teoría la aceptada para explicar el color en los colorantes y posteriores investigaciones llevaron a la conclusión de que el color se intensifica en aquellos colorantes, para los que se podían escribir un gran número de estructuras resonantes.

Se necesitaba un nuevo método para enfocar el problema que no sólo relacionara el color con la estructura química de los compuestos, sino que permitiera también la valoración cuantitativa. La teoría cuántica establecía que la energía tiene ciertos valores discretos (no es continua); de ésta concepción evolucionaron las dos teorías modernas del color: Teoría del Enlace Valencia (EV) y la Teoría del Orbital Molecular (OM).

### 3.2 COLOR Y ESTRUCTURA QUÍMICA

El color que se percibe de las sustancias corresponde a la composición de las frecuencias luminosas no absorbidas por esa sustancia. La absorción de cuantos de luz por una sustancia, depende de su estructura electrónica.

Se absorberán cuantos de energía correspondientes a determinadas longitudes de onda si existen orbitales vacíos cuya energía en exceso, respecto a los orbitales ocupados en el estado fundamental, sea exactamente igual a la del cuanto luminoso de la longitud de onda en cuestión.

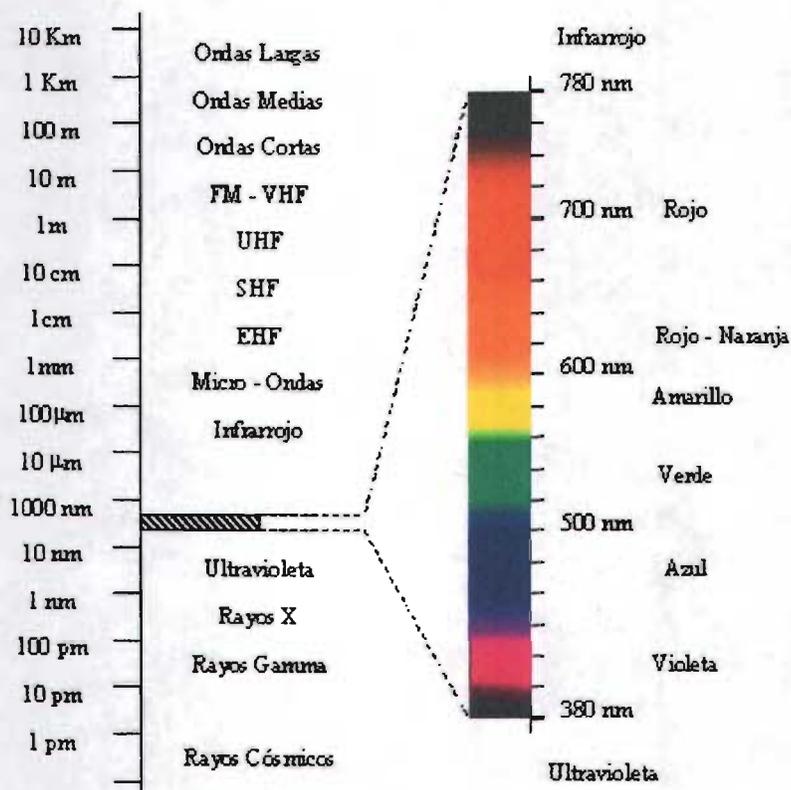
La energía (E) de un cuanto de luz está relacionada con la longitud de onda ( $\lambda$ ) y la frecuencia ( $\nu$ ) de esa luz, conforme la siguiente fórmula:

$$E = h \times \nu$$

$$E = h \times c / \lambda$$

Donde: h es la constante de Planck

c es la velocidad de la luz en el vacío



**Figura 8. Espectro electromagnético**

Para cada nivel electrónico de energía hay diversos subniveles de energía de vibración, rotación y traslación de esa molécula. Las diferencias de energía entre los orbitales electrónicos externos tienen valores que se corresponden con cuantos de luz visible o ultravioleta o infrarrojo próximo.

En el caso de sustancias orgánicas, las moléculas que absorben luz del espectro visible, contienen varios dobles enlaces conjugados, en los que las diferencias de energía entre los estados excitados del orbital electrónico molecular y el estado fundamental se corresponden con cuantos de luz de la zona visible de espectro.

Si las moléculas se interponen entre la luz blanca (mezcla de todas las frecuencia del espectro visible) y el ojo humano, absorberán las frecuencias permitidas por las diferencias de energía

entre sus niveles electrónicos. Esas frecuencias no llegarán al ojo humano, o la composición de las luces no absorbidas dará lugar al color percibido por el ojo.

Considerando que una banda simple de absorción se mueve en el espectro visible desde el ultravioleta hacia el infrarrojo. El tono percibido es complementario del color de la luz absorbida, tal como se muestra en la tabla siguiente.

**Tabla 3. Colores de luz visible**

$\lambda(\text{nm})$	Color absorbido	Color observado
380-420	Violeta	Amarillo verdoso
420-440	Azul violáceo	Amarillo
440-470	Azul	Naranja
470-500	Verde azulado	Rojo
500-520	Verde	Púrpura
520-550	Verde amarillento	Violeta
550-580	Amarillo	Azul violáceo
580-620	Naranja	Azul
620-680	Rojo	Verde azulado
680-780	Púrpura	Verde

✱ Ley de Lambert-Beer

La Ley de Lambert-Beer establece que la absorbancia  $A$ , es directamente proporcional a la concentración  $c$ , de la especie que absorbe la luz en la muestra.

Ley de Lambert Beer

$$A = \epsilon b c$$

donde:  $A$  es la absorbancia

$\epsilon$  es la absortividad molar

$c$  es la concentración

$b$  es el paso óptico

La ecuación es el fundamento de la espectrofotometría; la absorbancia es adimensional, aunque algunos autores escriben “unidades de absorbancia”.

La concentración de la muestra  $c$ , por lo general viene dada en unidades de mol/L (M). El paso óptico  $b$ , normalmente se expresa en centímetros. La cantidad de  $\epsilon$  se llama absorptividad molar o coeficiente de extinción y tiene unidades  $M^{-1}cm^{-1}$ , por tanto, el producto  $\epsilon b c$  es adimensional. La absorptividad molar es la característica de cada sustancia, la cual nos indica cuánta luz absorbe a una longitud de onda determinada<sup>13</sup>.

## CAPÍTULO IV.- COLORANTES

### 4.1 DEFINICIONES

Los colorantes naturales desempeñan papeles diversos en las plantas o animales de que proceden; no existe necesariamente una correspondencia entre el color de la planta o del animal y el colorante que de ella se obtiene.

\* El colorante es una sustancia orgánica o inorgánica que confiere color a otra, ya sea con o sin modificaciones a su estructura.

\* El colorante es también una sustancia soluble que se difunde e incorpora a otra a la que se fija de manera estable coloreándola o tiñéndola (a diferencia del pigmento, el cual es insoluble y simplemente se mezcla con la sustancia que se desea teñir). El grupo cromóforo presenta en su estructura dobles enlaces que permiten absorber rayos de luz de longitud de onda determinada, lo que hace posible la aparición del color.

\* El pigmento es prácticamente insoluble en el medio o vehículo al cual se incorpora y no sufre modificaciones en su estructura o composición química; de este modo confiere su color como una pintura aplicada sobre una pared.

\* El tinte es un compuesto o reactivo coloreado que durante los procesos de disolución, aplicación o fijación pierde su estructura cristalina y se modifica la composición química original de su molécula.

\* Las lacas, son extensiones de los tintes solubles en agua sobre un sustrato; las lacas colorean por dispersión, están disponibles en variedad de matices y de contenido de tinte. Generalmente el contenido de tinte varía desde 10% hasta 40%, éstas tienen mayor estabilidad a la luz, a químicos y son mucho más caras que los tintes

## 4.2 COLORANTES NATURALES

Los colorantes naturales son sustancias obtenidas de seres vivos, ya sean plantas (colorantes vegetales) o animales como insectos, moluscos, etc. En las plantas puede encontrarse el colorante como tal (cúrcuma) o en una forma no colorante (índigo o rubia).

En los seres vivos hay multitud de sustancias que se acumulan en diversas partes del cuerpo para contribuir a su coloración. Como las sustancias que producen color son compuestos químicos más o menos específicos, unas veces son metabolitos intermediarios y otras sustancias de desecho, cuya distribución en células y tejidos responde también a una pauta específica; los colores que exhiben los organismos suelen ser característicos de su propio grupo o incluso de estados fisiológicos definidos<sup>11</sup>.

### 4.2.1 COLORANTES VEGETALES

El colorante se puede localizar en cualquier parte de la planta, como se reseña a continuación:

\* Las hojas. Todas ellas contienen clorofila que les da el color verde. En algunas especies se pueden tener carotenoides, antocianinas, betacianinas (hojas del betabel).

\* Las flores. Su coloración puede deberse a la presencia de antocianinas, betacianinas, flavonoides o carotenoides. Los colores brillantes de los pétalos se correlacionan con la necesidad de atraer insectos.

\* Tallos y raíces: Algunas plantas tienen raíces de almacenamiento con pigmentos.

Entre las plantas que se usaron en el México antiguo, el achiote (*Bixa orellana*) para producir el color naranja debido a la presencia de bixina, el palo de Campeche (*Haematoxylon*

*campechanium*) donde la hematoxilina produce un color rojo; el *zacatlaxcalli* (*Cuscuta tinctoria*) produce el color amarillo.

#### 4.2.2 COLORANTES ANIMALES

La presencia de colorantes en los animales es múltiple; su localización en el cuerpo es variada, es observable la distribución general de manchas o de modelos de color. También, los colorantes animales y la coloración del cuerpo tiene un significado ecológico y adaptativo; existen colores de acumulación, de aviso y/o simulativos. Los colores más típicos de los animales se localizan en células pigmentarias distribuidas en el cuerpo.

Los diferentes tipos de coloración de los animales dependen de las células que acumulan los pigmentos; tales células suelen denominarse cromatóforos, aunque responden a naturaleza diversa, según los colorantes que encierren. En ocasiones los colorantes se difunden como manchas o acumulados de color, en una cutícula, en los esqueletos quitinosos de los artrópodos, en las conchas de los moluscos, etc.

Entre los animales que se usaron en el México antiguo se encuentra la cochinilla (*Dactylopius coccus*) que produce un color rojo debido a la presencia de ácido carmínico, que se encuentra en la hemolinfa del insecto (conforme a los resultados de experimentos que se detallan en el Capítulo VIII de esta tesis), y un caracol púrpura panza que genera un color púrpura.

## CAPÍTULO V.- ANTRAQUINONA

### 5.1 GENERALIDADES

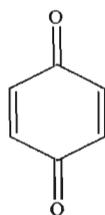
La importancia de la antraquinona reside en que constituye “el esqueleto” del ácido carmínico, el cual está presente en la cochinilla; de ahí que en este inciso se hará un breve recuento de la estructura química de ese cromógeno y de su forma de obtención.

El cromógeno antraquinona aparece en todos los colorantes naturales importantes de color rojo, con propiedades sobresalientes de solidez, especialmente a la luz. Los colorantes de la antraquinona son la segunda clase química más importante de colorantes; tienen menos importancia comercial que los azoicos (ubicados en primer lugar) porque su precio es más elevado, son más hipocrómicos que los azoicos, es decir, tienen menos de la mitad de fuerza tintórea (absorben poco).

Los colorantes azoicos dominan los matices amarillo, naranja y rojo, pudiendo igualar las propiedades excelentes de los colorantes de la antraquinona.

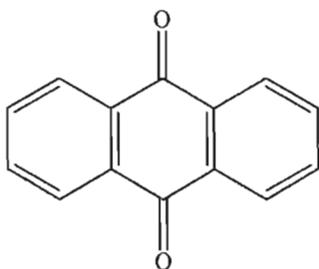
#### 5.1.1 ESTRUCTURA QUÍMICA

Las antraquinonas pueden considerarse como derivados condensados de las *p*-benzoquinonas; esta última tiene una estructura plana.



**Figura 9. Fórmula de la *p*-benzoquinona**

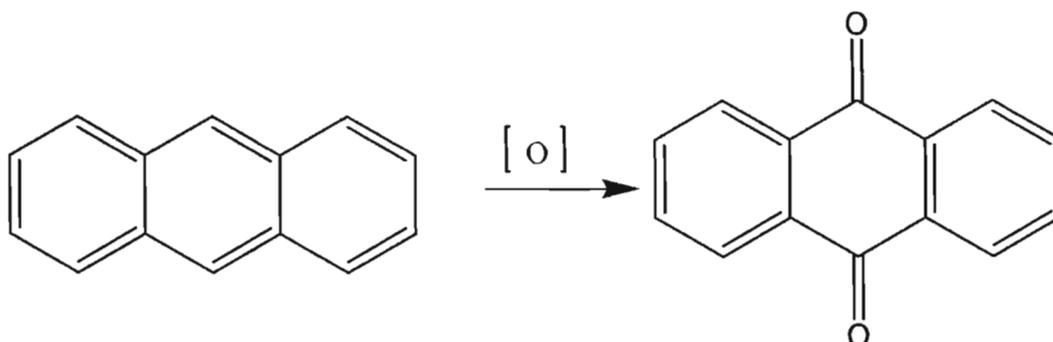
La antraquinona puede considerarse como dos anillos de benceno unidos por dos grupos carbonilos.



**Figura 10. Fórmula de la antraquinona**

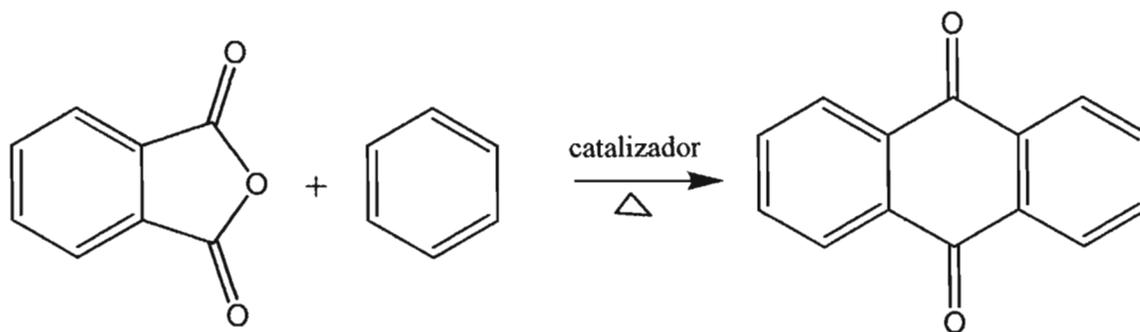
### 5.2.2 OBTENCION DE LA ANTRAQUINONA

Los dos métodos industriales utilizados para la síntesis de la antraquinona son la oxidación del antraceno y la síntesis a partir de benceno y anhídrido ftálico. El antraceno se obtiene del alquitrán de hulla y por oxidación da 9,10-antraquinona con un buen rendimiento; como agentes oxidantes se pueden utilizar los ácidos nítrico o crómico.



**Figura 11. Formación de la 9,10-antraquinona.**

En el segundo método, el anhídrido ftálico se calienta con benceno y un catalizador como el cloruro de aluminio. La ciclización final se lleva a cabo calentado la carboxibenzofenona con ácido sulfúrico concentrado.



**Figura 12. Formación de la 9,10-antraquinona.**

## CAPÍTULO VI.- TÉCNICAS DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL

En este apartado se describen las técnicas de análisis instrumental aplicables a los colorantes como la difracción de rayos X, microscopía electrónica, microscopía electrónica de barrido, microscopía de fluorescencia, microscopía confocal, espectroscopia de dispersión rayos X, espectroscopia en el infrarrojo, espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protón y  $^{13}\text{C}$ , espectrofotometría ultravioleta visible.

### 6.1 DIFRACCIÓN DE RAYOS X

Desde su descubrimiento en 1895 por Roentgen, los rayos X han sido utilizados con diversos fines; muchos y muy variados dispositivos han sido desarrollados y usados en diversas áreas de la ciencia y la medicina. La difracción de rayos X es la técnica básica para llevar a cabo el seguimiento de una reacción química en estado sólido, así como para la identificación de fases cristalinas.

Un cristal se define como un sólido compuesto por átomos ordenados en un arreglo periódico, con simetría translacional en tres dimensiones. No todos los sólidos son cristalinos, algunos son amorfos (por ejemplo el vidrio), es decir, no presentan algún arreglo periódico regular de largo alcance entre sus átomos.

Al incidir un haz de electrones de alta energía sobre un átomo, éste registra el desprendimiento de un electrón de una capa interna quedando en estado excitado. La transferencia de un electrón de una capa externa al hueco producido, con su correspondiente emisión de energía en forma de rayos X, permite que el átomo regrese a su estado original.

Los rayos X son fotones de alta energía con longitudes de onda cortas que caracterizan a cada elemento. Su intensidad es proporcional al número de átomos excitados.

La producción de rayos X se lleva a cabo en un dispositivo denominado “tubo de rayos X”, constituido esencialmente por una fuente de electrones y dos electrodos.

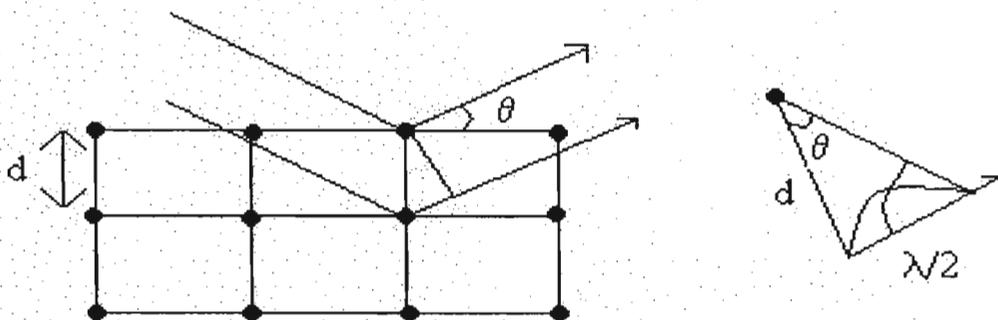
El cátodo emite electrones que viajan de manera acelerada por un campo de alto voltaje, impuesto entre los dos electrodos, hasta el ánodo o blanco constituido principalmente por cobre, cobalto, molibdeno, plata o tungsteno. El impacto de los electrones con el blanco genera rayos X que son irradiados produciendo dos tipos de espectros: el continuo y el característico. La intensidad del primero varía de forma continua con la longitud de onda. El segundo está formado por radiaciones cuyas energías varían de manera discreta, se presenta después de un voltaje determinado y superpuesto al espectro continuo. Una línea de emisión característica se aísla por medio de filtros y se hace incidir sobre la muestra a analizar.

La difracción de rayos X por cristales se explica a través de la ley de Bragg. Los cristales son representados por familias de planos que actúan como espejos semitransparentes en los cuales, al incidir un haz monocromático de rayos X, se lleva a cabo el proceso de difracción, representado de manera muy adecuada por uno de “reflexión”.

Los rayos penetran en la superficie del cristal reflejando una radiación virtualmente monocromática. La relación existente entre la longitud de onda del haz de rayos X, el ángulo de difracción  $\theta$  y la distancia  $d$  entra cada serie de planos atómicos de la red cristalina está descrita por la ecuación de Bragg:

$$n\lambda = 2d \sin \theta$$

$n$  es un número entero que representa el orden de difracción.

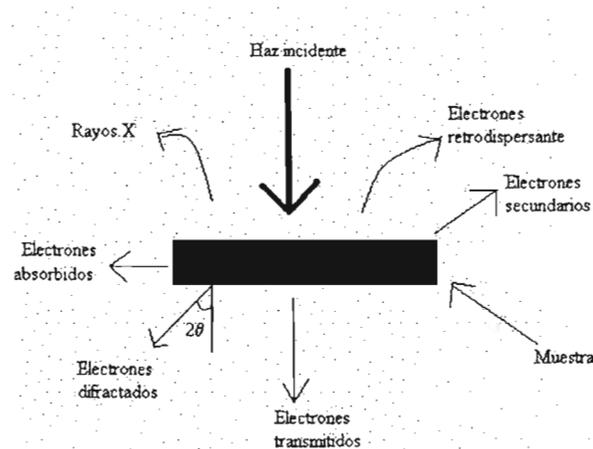


**Figura 13. Interpretación gráfica de la Ley de Bragg**

## 6.2 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

La microscopía electrónica es una herramienta muy poderosa para el análisis de materiales, permite ver en detalle muestras de tamaños muy pequeños. El microscopio electrónico es fundamental para el estudio microestructural de una muestra.

El principio básico del funcionamiento de un microscopio electrónico se basa en la interacción de un haz de electrones de alta energía con los átomos de la muestra, lo que produce varias formas de radiación. Cada una de éstas proporciona cierto tipo de información, lo que da lugar a técnicas de análisis diferentes.



**Figura 14. Tipos de radiación producida por la interacción de un haz de electrones con una muestra**

## 6.3 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB)

La microscopía electrónica de barrido (MEB) es un método muy útil en la identificación de texturas y formas de agregados. Las imágenes MEB se generan a través de la recolección de los electrones secundarios y los retrodispersados producidos en la interacción del haz con la muestra. Proporcionan información sobre la morfología, la topología, el tamaño de partícula y otras características importantes de la muestra como, la pureza; es posible saber de manera cualitativa si se trata de una fase homogénea o no. La definición o resolución de la imagen es del orden de  $0.005\mu\text{m}$ .

## 6.4 MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA

Una molécula que fluoresce emite luz de longitud de onda que se encuentra dentro del espectro visible, cuando es expuesta a una fuente de luz ultravioleta; es posible revelar moléculas fluorescentes naturales, como la vitamina A y algunos neurotransmisores. Al ser escasas las moléculas autofluorescentes, su aplicación más difundida es para revelar una fluorescencia agregada, como en la detección de antígenos o anticuerpos en procedimientos de coloración inmunocitoquímica.

También se pueden inyectar moléculas fluorescentes específicas en un animal o directamente en células y usarlas como marcadores. Estos métodos sirvieron para estudiar uniones intercelulares, trayectorias de las fibras nerviosas en neurobiología y en detección de marcadores del crecimiento fluorescentes en tejidos mineralizados.

Se insertan distintos filtros entre la fuente de luz ultravioleta y la muestra para producir luz monocromática o casi monocromática, o entre el espécimen y el objetivo, lo que permite que la estrecha banda de longitudes de onda de fluorescencia llegue hasta el ojo o incida en una emulación fotográfica u otro procedimiento analítico.

Con el microscopio de fluorescencia se puede observar al mismo tiempo todo el grosor de una célula. La discriminación en planos o imágenes independientes, se efectúa mediante la obtención de secciones correspondientes a planos consecutivos.

## 6.5 MICROSCOPIA CONFOCAL

El microscopio confocal utiliza diferentes fuentes de iluminación de gran intensidad y sincrónicas; de un juego de diafragmas y de un sistema de captación de imagen electrónico, permite la obtención de imágenes de finas secciones ópticas. Es posible reconstruir una imagen tridimensional a partir de series de secciones ópticas de este tipo obtenidas a diferentes profundidades, archivadas en una computadora.

Los detalles ópticos de este microscopio son complejos, aunque la idea es sencilla. El sistema óptico del microscopio, generalmente fluorescente, no ilumina toda la preparación a la vez, sino que en cada momento ilumina sólo un pequeño punto a una cierta profundidad de la muestra.

Para ello se necesitan fuentes luminosas de gran potencia, habitualmente haces láser, cuya luz pasa a través de un diafragma. La luz fluorescente emitida por la preparación se recoge y produce una imagen a la entrada en un fotodetector adecuado.

La muestra es barrida por el punto luminoso de manera similar al barrido que forma la imagen en la pantalla de televisión. La imagen bidimensional digital se forma al almacenar en una matriz numérica, las intensidades luminosas medidas en cada uno de los puntos del barrido. La imagen en estos microscopios se forma en un sistema electrónico y se genera uno o más ficheros que contienen tanto las imágenes obtenidas como y la información acerca de las condiciones en que se han tomado.

## 6.6 ESPECTROSCOPIA DE DISPERSIÓN RAYOS X (EDS)

Utilizando el haz de electrones de un microscopio electrónico de barrido, se pueden realizar análisis químicos elementales midiendo la energía y la distribución de la intensidad de las señales de rayos X generadas en el material por el haz de electrones incidente.

Existen varios métodos para detectar y medir estas señales, así como para convertirlas en una forma útil para realizar análisis cualitativos y cuantitativos. Esto se realiza mediante el acoplamiento de un espectrómetro de dispersión de energía al MEB para obtener la composición química elemental del material de estudio.

## 6.7 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO (IR)

La región infrarroja del espectro electromagnético cubre el intervalo arriba del visible ( $7.8 \times 10^{-7}$  m) hasta unos  $10^{-4}$  m. En química orgánica sólo se usa la región medida de  $2.5 \times 10^{-6}$  m hasta  $2.5 \times 10^{-5}$  m (Fig. 15).

Ultravioleta	Visible	Infrarrojo cercano	Infrarrojo	Infrarrojo lejano	Microondas	Radio
$\lambda$	$10^{-5}$	$10^{-4}$	$10^{-3}$	$10^{-2}$	$10^{-1}$	
(cm)						
		$\lambda = 2.5 \times 10^{-4}$ cm	$\lambda = 2.5 \times 10^{-3}$ cm			

**Figura 15. Región infrarroja del espectro electromagnético**

Las moléculas tienen cierta cantidad de energía distribuida en su estructura, esta energía hace que los enlaces se estiren y contraigan, que los átomos oscilen y que se presenten otras vibraciones moleculares, la cantidad de energía que contiene una molécula no es una variable continua, sino cuantizada, esto es, una molécula sólo se puede estirar o flexionar en determinadas frecuencias.

Cuando una molécula absorbe radiación infrarroja, aumenta la amplitud de vibración molecular cuya frecuencia coincide con la de la radiación. En otras palabras, el “resorte” que une los átomos se estira y comprime un poco más. Se puede conocer qué clase de movimientos tiene una molécula midiendo su espectro de infrarrojo, ya que cada frecuencia absorbe una molécula corresponde a cierto movimiento molecular.

## 6.8 ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)

Muchos núcleos atómicos se comportan como si giraran en torno de un eje, como la Tierra gira sobre sí misma. Dado que tienen carga positiva, funcionan como diminutos imanes rectos, por lo que interactúan con un campo magnético externo. A este giro se le llama spin o espín nuclear.

A falta de un campo magnético externo, los giros de los núcleos magnéticos se orientan al azar. Cuando se coloca una muestra que contenga esos núcleos entre los polos de un imán potente, los núcleos adoptan orientaciones específicas.

Se puede orientar un núcleo giratorio de  $^1\text{H}$  o de  $^{13}\text{C}$ , de tal manera que su campo magnético está alineado con el campo externo (o paralelo al mismo) o en contra (antiparalelo al campo). Las dos orientaciones no tienen la misma energía, por lo que no existe la misma probabilidad de presentarse.

Si ahora los núcleos orientados se someten a la radiación electromagnética de la frecuencia adecuada, hay una absorción de energía y el estado de menor energía “voltea su espín” o giro y pasa al estado de mayor energía. Cuando sucede el volteo, se dice que los núcleos están en resonancia con la radiación aplicada de ahí el nombre de resonancia magnética nuclear.

Los núcleos de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  no son los únicos susceptibles al fenómeno de resonancia magnética nuclear.

Los espectros de resonancia magnética nuclear se muestran en gráficas, en donde se observa que la intensidad de campo magnético aplicada, aumenta de izquierda (campo bajo) a derecha (campo alto).

## 6.9 ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA VISIBLE (UV-Vis)

El análisis en la región ultravioleta visible es una técnica que forma parte del campo de estudio de la espectroscopia molecular, la cual estudia la interacción de la radiación electromagnética con la materia. Las ondas electromagnéticas cubren una amplia gama de frecuencias y por esta razón se dividen en diferentes regiones entre las cuales se encuentra definido el UV-Visible.

Cuando la radiación pasa de un vacío a la superficie de una porción de materia, el vector de la radiación actúa recíprocamente con los átomos y moléculas del medio. No obstante, la naturaleza de la acción mutua puede variar según las propiedades de la materia. Como consecuencia, la radiación puede ser transmitida, absorbida, reflejada o dispersada.

La espectrofotometría UV-Visible usa radiación electromagnética de la región ultravioleta y visible para promover energéticamente electrones de valencia en una molécula hacia un estado de energía excitado. Un espectrofotómetro de UV-Visible mide entonces la absorción de la energía para promover el electrón de la molécula a una longitud de onda específica o sobre un intervalo de longitudes de onda.

## CAPÍTULO VII.- PARTE EXPERIMENTAL

### 7.1 NOCHEZTLI

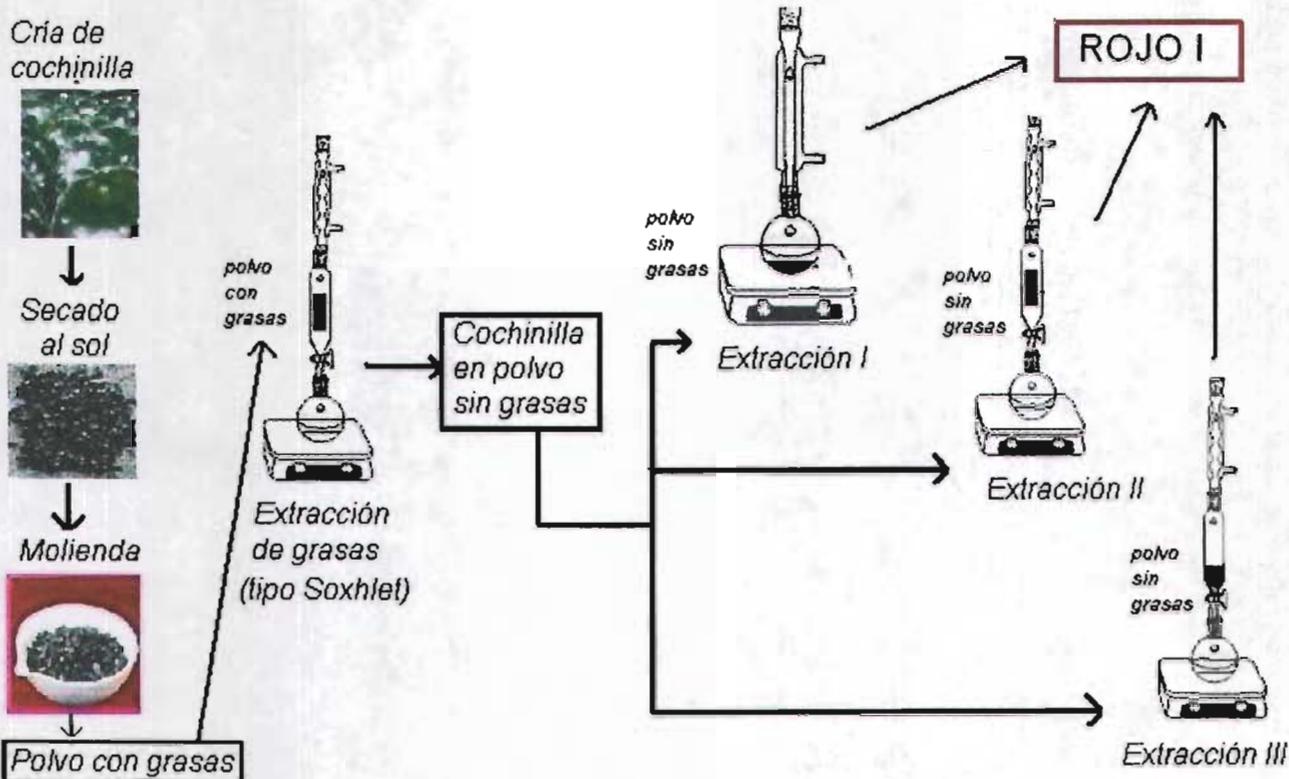
La fase experimental consistió en determinar y aplicar los procedimientos químicos adecuados para obtener y purificar el colorante, con los menores costos y rendimientos, caracterizarlo y adicionalmente, efectuar diversas pruebas para localizar la fuente del colorante en el insecto.

#### 7.1.1 PROCESO DE PURIFICACIÓN DEL COLORANTE

Para el proceso de obtención y purificación del colorante, en su primera fase, fue necesario desarrollar un procedimiento que consta de las siguientes etapas, las cuales se detallan enseguida y se describen en la Figura 16:

- ★ Cría y recolección de cochinilla fina.
- ★ Las cochinillas finas se secan por el método de secado al sol y se liberan de las ceras blancas que tienen cuando se encuentran en el nopal.
- ★ Los insectos se muelen en la forma más fina posible y se obtiene un polvo con grasas.
- ★ La cochinilla en polvo con grasas (10 gramos) se sometió a una extracción continua tipo Soxhlet, durante 8 horas; en el proceso se utiliza hexano como disolvente, se concluyó cuando se observó la ausencia de grasas; el disolvente se evaporó a presión reducida y se obtuvieron 2 gramos de grasas en forma de polvo de color rosa pálido, el cual se identificó por medio de difracción rayos X.
- ★ La parte sólida constituida por 8 gramos de cochinilla en polvo sin grasas, obtenida conforme al paso anterior (extracción de grasas), fue sometida a tres extracciones adicionales y diferentes, en las cuales se utilizó metanol.

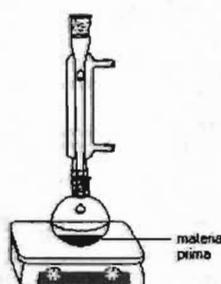
Las denominaremos Extracciones I, II y III, dos de ellas fueron continuas tipo Soxhlet (II y III), y la otra fue a reflujo (I).



**Figura 16. Diagrama de la primera fase del desarrollo experimental para Nocheztli**

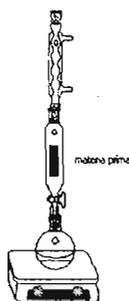
Los propósitos de las Extracciones I, II y III, fueron: a) concentrar el colorante de forma parcial para obtener un compuesto **único** (independientemente del tipo de extracción), a este compuesto único se le identificará como Rojo I; y, b) obtener el método que signifique el menor costo, tiempo y mayor rendimiento, para extraer *Nocheztli*. Las extracciones se describen enseguida:

Extracción I.- Los 8 gramos del insecto en polvo sin grasas, se colocaron en el matraz con 150 mL de metanol; la mezcla se sometió a reflujo y agitación constante durante 36 horas. El metanol se evaporó a presión reducida y se extrajeron 0.42 gramos de un polvo de color rojo al que se denominó Rojo I, el residuo fue un polvo rojo café con un peso de 7.58 g (Fig. 17).



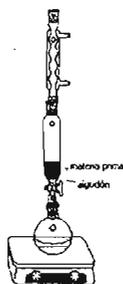
**Figura 17. Extracción I**

Extracción II.- Se llenó el papel filtro en forma de dedal, con 7.9 gramos del polvo del insecto sin grasas y se colocó en la cámara de extracción, con 150 mL de metanol en el matraz; se sometió a un proceso de extracción continua por 36 horas; con posterioridad, el metanol se evaporó a presión reducida y se obtuvieron 0.56 gramos de un polvo de color rojo similar al denominado Rojo I; el residuo fue de 7.34 g del mismo color rojo café (Fig.18).



**Figura 18. Extracción II**

Extracción III.- Se colocó un algodón en la parte inferior de la cámara de extracción, con el fin de que sólo pasara el disolvente; después se colocaron 8 gramos de cochinilla sin grasas directamente en la cámara, sin el uso de papel filtro, con 150 mL de metanol en el matraz, que fueron sometidos a un proceso de extracción continua por 36 horas; finalmente el metanol se evaporó a presión reducida y se obtuvieron 1.0 gramos del Rojo I, el residuo fue de 7.0 g de polvo con características iguales a las de extracciones anteriores (Fig. 19).



**Figura 19. Extracción III**

El Rojo I se caracterizó mediante la utilización de las siguientes técnicas: difracción de rayos X (BRUKER AXS D8 ADVANCE), resonancia magnética de protón (Espectros corridos con DMSO-d<sub>6</sub>, a 300 MHz en el aparato Unity-INOVA-300), resonancia magnética de <sup>13</sup> Carbono (Espectro corridos con DMSO-d<sub>6</sub>, a 75 MHz en el aparato Unity-INOVA-300) ultravioleta (Helios γ v 7.03) e infrarrojo (Nicolet nexos 470 FT-IR ESP).

Cabe mencionar que este Rojo I, comúnmente se le llama colorante al 50 % y es utilizado en la industria textil.

En una segunda fase, se purificó en placa por medio de cromatografía en capa fina preparativa (ccf) una muestra de 0.1 g del Rojo I, con el fin de probar la factibilidad de separar con sílica gel el colorante de diversas impurezas; y se obtuvieron 9 polvos diferentes en cantidades tan pequeñas que no se les pudo efectuar ninguna caracterización.

Puesto que de la muestra anterior se obtuvo una separación de los compuestos, se procedió a tomar una segunda muestra de 1.5 g del Rojo I y se le aplicó una cromatografía en columna. Se usó como soporte sílica gel y como eluyentes hexano, acetato de etilo, etanol, acetona-agua (desde 90-10 hasta 10-90), agua-metanol (desde 90-10 hasta 10-90) y finalmente agua. Las proporciones de los disolventes se monitorearon en cromatografía en capa fina, donde se observó que se separaban diferentes compuestos. De la cromatografía en columna se obtuvieron, una vez más, nueve polvos, los cuales se presentan en la siguiente Tabla.

**Tabla 4. Compuestos obtenidos de una muestra del Rojo I (1.5 g.)**

<b>Polvo</b>	<b>Disolvente empleado</b>	<b>Color</b>	<b>Peso (g)</b>	<b>Rendimiento (% en peso)</b>
1	Etanol	Violeta	0.1295	8.63
2	Etanol	Violeta	0.2059	13.73
3	Acetona – Agua (30-70)	Rojo	0.058	0.39
4	Acetona – Agua (30-70)	Rojo	0.0023	0.15
5	Acetona – Agua (20-80)	Rojo	0.0368	2.45
6	Acetona – Agua (10-90)	Rojo	0.013	0.09
7	Metanol – Agua (10-90)	Rojo	0.0514	3.43
8	Agua	Negro	0.8817	58.78
9	Agua	Negro	0.0948	6.32

Los polvos resultantes de la segunda muestra se caracterizaron con las técnicas de difracción de rayos X y resonancia magnética de protón.

Posteriormente se formaron dos grupos, con base en los nueve compuestos obtenidos (Tabla 4), cuyas propiedades se describen a continuación:

*Primer grupo.* Lo componen seis fracciones (Tabla 4: 1, 2, 3, 4, 5 y 6) su peso fue de 0.4455 g y se les aplicó una cristalización por par de disolventes, con una mezcla etanol-agua (90-10). De la mencionada cristalización por par de disolventes se obtuvo un segundo compuesto de color rojo, al que denominaremos Rojo II, pesó 0.2879 g equivalentes al 64.62% en peso de rendimiento de la mezcla de los seis polvos. El residuo fue de color negro y pesó 0.1570 g. Al Rojo II\* se le caracterizó con las técnicas de difracción de rayos X, resonancia magnética de protón, resonancia magnética de <sup>13</sup>Carbono, ultravioleta, infrarrojo y espectroscopia de dispersión de rayos X (NORAN).

*Segundo grupo.* Fue formado por los tres polvos restantes (7, 8 y 9, según la Tabla 4) que también se unieron y se les aplicaron diferentes lavados con hexano, acetato de etilo, acetona, etanol, metanol y agua. Se obtuvo el Violeta I, cuyo peso fue de 0.987 g equivalente al 96.02% en peso de rendimiento de la mezcla de los tres polvos, el residuo fue de 0.0409 g. El Violeta I se caracterizó por medio de difracción de rayos X y resonancia magnética de protón.

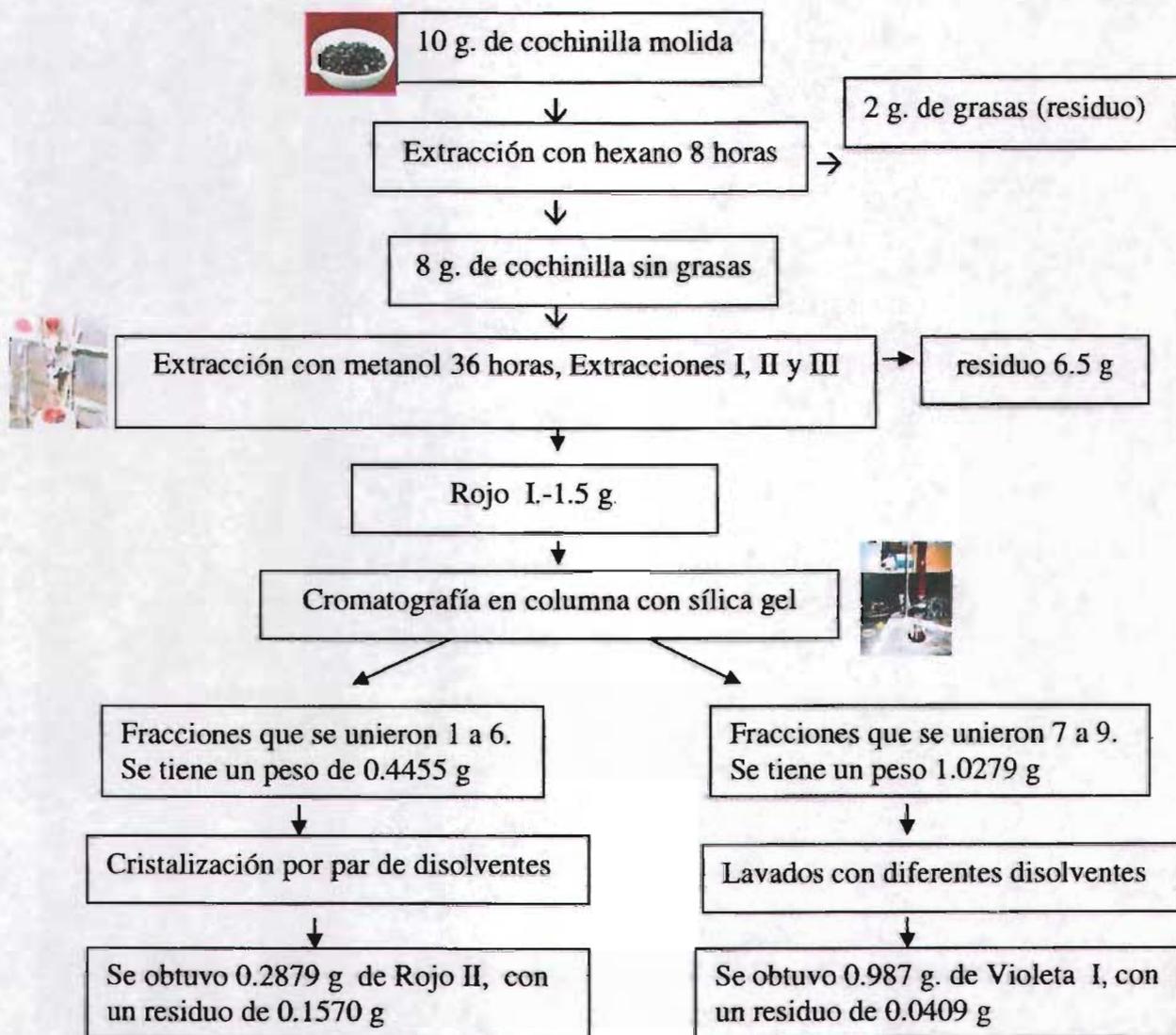
Esta segunda fase del experimento se representa esquemáticamente en la Figura 20.



**Figura 20. Diagrama de la segunda fase del desarrollo experimental para Nocheztlí**

\* Cabe aclarar que solamente se enumerarán los compuestos importantes para la investigación, tanto para Nocheztlí como para K'axtlí.

La parte experimental de extracción y purificación de *Nocheztli* se puede resumir en el siguiente diagrama de flujo (Figura 21).



**Figura 21. Metodología para la extracción de *Nocheztli***

### 7.1.2 EL COLORANTE EN EL INSECTO

Se tomaron varias micrografías de la cochinilla en los microscopios óptico (Reichert-Jung, Polivar), de fluorescencia (Reichert-Jung, Polivar), confocal (Bio-Rad MCR-1024) y electrónico de barrido (JEOL JEM-5600 LV) que requirió recubrir la muestra con oro (SPULERING, Anatech). Se utilizó como muestra cortes del insecto vivo, no de insectos muertos secados al sol.

Se fijó la muestra conforme a la siguiente metodología:

- 1.- Se sumerge la cochinilla durante 12 horas en un fijador que contiene 4% paraformaldehído y 1% de ácido pícrico.
- 2.- Se retira la cochinilla y se lava en KPBS (solución amortiguadora), que es NaCl: 90 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: 28.55 g, KHPO<sub>4</sub>: 4.9 g, 10L de H<sub>2</sub>O.
- 3.- Se sumerge en sacarosa al 30% durante tres minutos.
- 4.- Se calientan 5 mL de agar al 6% para la inclusión o impregnación del insecto.
- 5.- La inclusión se logra colocando la cochinilla en el agar caliente, en un molde de cubos pequeños, con el fin de que cuando se seque, la cochinilla quede “suspendida” en el agar. Con una navaja se corta el exceso de parafina para obtener un cuadro (con la cochinilla dentro) de 1 cm x 1 cm.
- 6.- Se lleva el cuadro al vibratomo (Pelico 101), para realizar los cortes de un grosor de 200 µm.
- 7.- Los cortes se fijan con Vectorshield para ser observados en el microscopio.

Este proceso se realizó con cochinilla madura y con una ninfa II.

## 7.2 K'AXTI

De manera análoga al procedimiento de *Nocheztli*, se aplicaron los pasos para obtener y purificar el colorante, con los menores costos y rendimientos, caracterizarlo y adicionalmente, efectuar diversas pruebas para localizar la fuente del colorante en la planta. Para la planta se tuvo la ventaja de aprovechar la experiencia con *Nocheztli*, en cuanto a la determinación del procedimiento para obtener y purificar el colorante.

### 7.2.1 PROCESO DE PURIFICACIÓN DEL COLORANTE

Se recolectaron tres plantas en distintos lugares, las cuales se llevaron al herbario ubicado en la Facultad de Ciencias de la UNAM, para su clasificación taxonómica. Al respecto se nos informó

que su taxonomía era diferente. La obtenida en Tultitlán, Edo. de México correspondía a la denominada *Cuscuta tinctoria*; la encontrada en el centro de la ciudad de México, se clasificó como *Cuscuta mitraeformis* y la recolectada en el sur de la ciudad de México, se clasificó como *Cuscuta corymbosa*.

Muestras de los tres tipos de plantas se cortaron en trozos pequeños y se colocaron independientemente, en tubos de ensaye con disolventes como hexano, acetato de etilo, acetona, etanol, metanol, metanol-agua (80-20, 50-50, 20-80) y agua.

Las muestras se molieron lo más fino posible, por medio de extracción continua tipo Soxhlet, se eliminaron las grasas que se encontraban aún adheridas al tallo; en este procedimiento se utilizó hexano como disolvente.

En la extracción de las grasas para cada muestra se utilizan 10 gramos de polvo molido finamente, la duración del proceso fue de 6 horas; cuando se observó la ausencia de grasas, se detuvo la extracción. El disolvente se evaporó a presión reducida y se obtuvo un aceite color amarillo de 9.2 g. de producto sin grasas.

Debido a que en *Nocheztli* los mejores resultados se obtuvieron con la Extracción III (como se explicará detalladamente en el Capítulo VIII), de manera análoga se aplicó el procedimiento de la Extracción III en las tres tipos de plantas. Cabe destacar que el tiempo utilizado en la extracción de *K'axti* fue de 6 horas y para *Nocheztli* 8 horas.

Las especificidades para el *K'axti* se describen a continuación:

Extracción III.- Se colocó un algodón en la parte inferior de la cámara de extracción, con el fin de que solamente pasara el disolvente; después se colocaron 9.2 gramos de *K'axti* sin grasas directamente en la cámara, sin el uso de papel filtro, con 150 mL de etanol en el matraz, que fueron sometidos a un proceso de extracción continua por 36 horas; finalmente el etanol se evaporó a presión reducida y se obtuvo un polvo de color amarillo al que llamaremos Amarillo I, mismo que se caracterizó con la técnica de difracción de rayos X. El mismo experimento se reprodujo y continuó con *Cuscuta tinctoria* secada al sol.

**Tabla 5. Experimento para la extracción de *K'axti***

Planta	<i>C. tinctoria</i>	<i>C. tinctoria (seca)</i>	<i>C. mitraeformis</i>	<i>C. corymbosa</i>
Cantidad	10.2574 g	10.0002 g	10.1959 g	10.05g
Sólido sin grasa	9.2471 g	9.2008 g	9.2072 g	9.1851g
Sólido extraído	1.9586 g	2.23 g	1.6 g	1.1 g
Rendimiento en peso	19%	22.3%	15.6%	10.9%

En la Figura 22 se muestra la primera fase experimental para *K'axti*, como puede observarse el procedimiento es análogo al de *Nocheztli*, con la ventaja que no fue necesario realizar dos tipos de extracciones.

Recolección de la planta



*C. tinctoria*

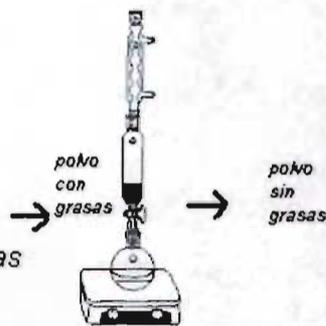
*C. tinctoria (seca)*

*C. mitraeformis*

*C. corymbosa*

Molienda

Polvo con grasas



Extracción de grasas (tipo Soxhlet)



Extracción tipo III (como en Nocheztli)



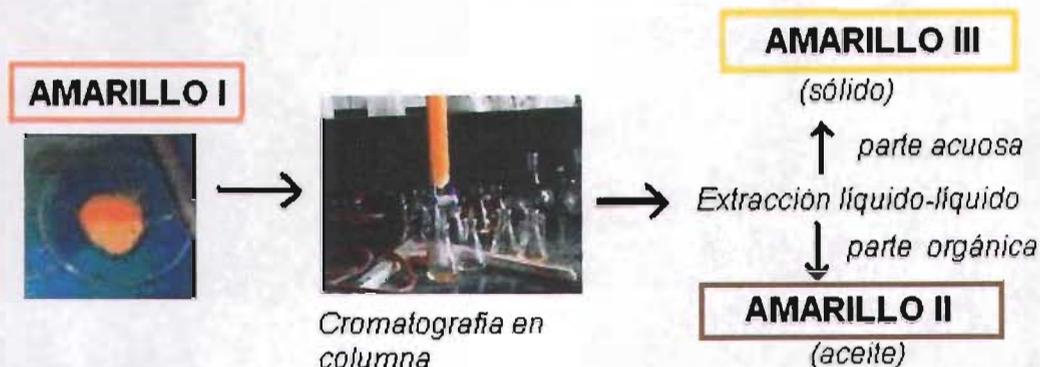
**AMARILLO I**

**Figura 22. Primera fase del desarrollo experimental para *K'axti***

Al Amarillo I (2.23 g obtenido de la *C. tinctoria* seca) se le aplicó una cromatografía en columna. Se utilizaron como eluyentes hexano, acetato de etilo, acetato de etilo-etanol (90-80, 80-20, 70-30, 60-40, 50-50), etanol, metanol y agua. Se efectuó primero una cromatografía en capa fina.

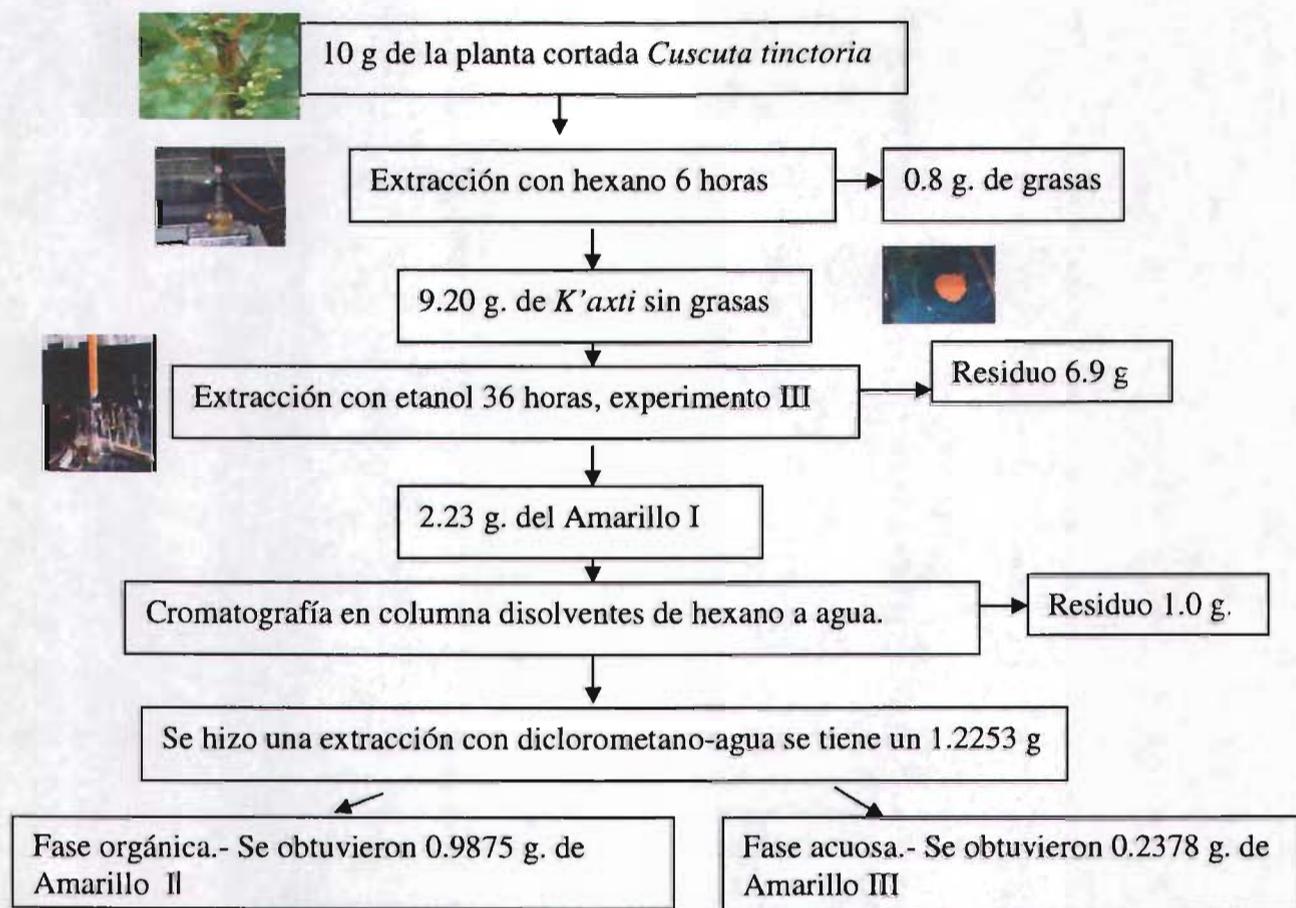
Se unieron las disoluciones de etanol y metanol y se efectuó una extracción utilizando acetato de etilo-agua (90-10); la parte orgánica se concentró y se produjo un aceite café oscuro con un peso de 0.9875 g que denominaremos Amarillo II; es decir, el peso resultó 44.26% respecto al Amarillo I. El aceite se caracterizó por medio de difracción de rayos X.

Con la parte acuosa se obtuvieron 0.2378 g de un polvo amarillo al que llamaremos Amarillo III; su peso fue 10.66% respecto al Amarillo I. El polvo se caracterizó con difracción de rayos X, resonancia magnética de protón, resonancia magnética de  $^{13}\text{C}$ Carbono y espectroscopia de dispersión de rayos X. Esta segunda fase del experimento se representa en la Figura 23.



**Figura 23. Segunda fase del desarrollo experimental para K'axti**

La parte experimental que inicia con el corte de la planta hasta la obtención de las diferentes clases de amarillo, se puede resumir en la Figura 24.



**Figura 24. Metodología para la extracción de K'axti**

## 7.2.2. EL COLORANTE EN LA PLANTA

Para explorar los lugares de la ubicación del colorante en la planta, se tomaron varias imágenes de muestras de *Cuscuta tinctoria* fresca en los microscopios óptico, de fluorescencia y electrónico de barrido.

Para tal efecto, se fijó la muestra conforme a la siguiente metodología:

- 1.- Se sumerge durante 12 horas la planta, en un fijador con 4% paraformaldehído y 1% de ácido pícrico.
- 2.- Se retira y se lava la planta en KPBS que es NaCl: 90 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: 28.55 g, KHPO<sub>4</sub>: 4.9g, 10L de H<sub>2</sub>O.
- 3.- Se sumerge nuevamente la planta en sacarosa al 30% durante tres minutos.
- 4.- Se calienta 5 mL de agar al 6%, para hacer la inclusión o impregnación.
- 5.- La inclusión se logra al colocar la planta en el agar caliente en un molde de cubito, para que la planta quede “suspendida” en el agar cuando éste quede seco. Con una navaja se corta el exceso de parafina para que quede un cuadro (con la planta adentro) de 1 x 1 cm.
- 6.- Se lleva la muestra al vibratomo, se realizan los cortes, cuyos grosores fueron de 100 y 50  $\mu\text{m}$ .
- 7.- Los cortes se fijan para el microscopio con Vectorshield.

## CAPÍTULO VIII.- ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 8.1 NOCHEZTLI

El rescate del conocimiento sobre algunos colorantes del México antiguo es posible con el uso de la química, es factible determinar el método más eficiente para la obtención de esos colorantes, caracterizarlos y verificar su pureza, de tal modo que los procedimientos artesanales, valiosos por sí mismos, se complementan y se pueden innovar con la aplicación de la ciencia.

#### 8.1.1 PROCESO DE PURIFICACIÓN DEL COLORANTE

En la primera fase de los experimentos se tomaron en cuenta las siguientes consideraciones:

- Se molió el insecto con el fin de que tuviera una mayor superficie de contacto con el disolvente y favoreciera la extracción.
- En la extracción de grasas, se observó que el insecto está constituido en su parte exterior por grasas útiles para protegerse del medio ambiente. Se obtuvo un polvo color rosa pálido que son las grasas extraídas. El difractograma de rayos X de las grasas, muestra una materia “cristalina” y según la base de datos del difractómetro se infiere que las grasas contienen ácido esteárico.

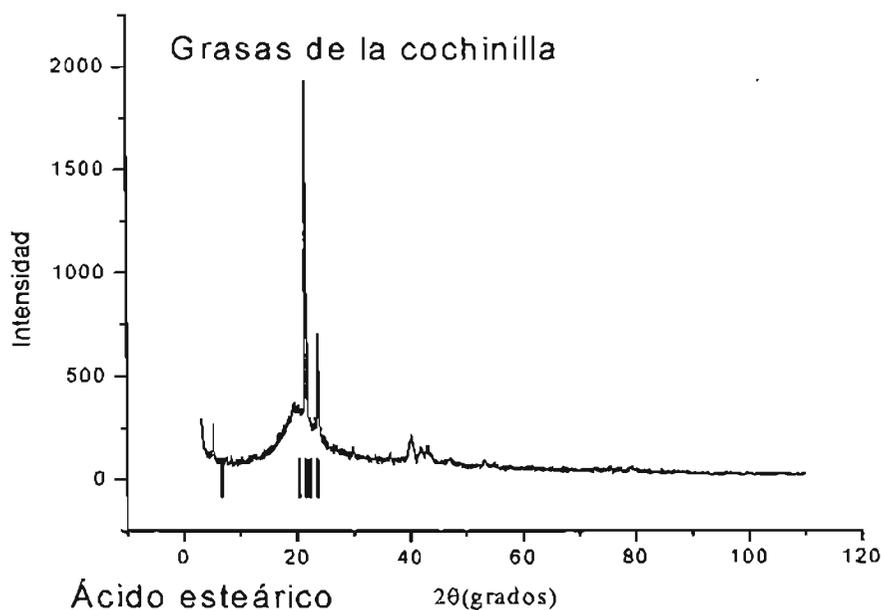


Figura 25. Difractograma de rayos X de las grasas de la cochinilla

También se aplicó a tales grasas, una cromatografía en capa fina donde se observaron tres bandas, por ello no se tomaron espectros de resonancia.

Es destacable que compuestos que parecen residuos (o impurezas) en un proceso de purificación del colorante, en realidad pudieran constituir materia prima susceptible de ser aprovechada por alguna empresa, puesto que los ácidos grasos se utilizan en diferentes industrias por sus múltiples aplicaciones.

El ácido esteárico más que un residuo o impureza, en realidad es un subproducto de gran utilidad para ciertas industrias, como en la fabricación de velas, lubricantes, en la industria de hule, detergentes, cosméticos.

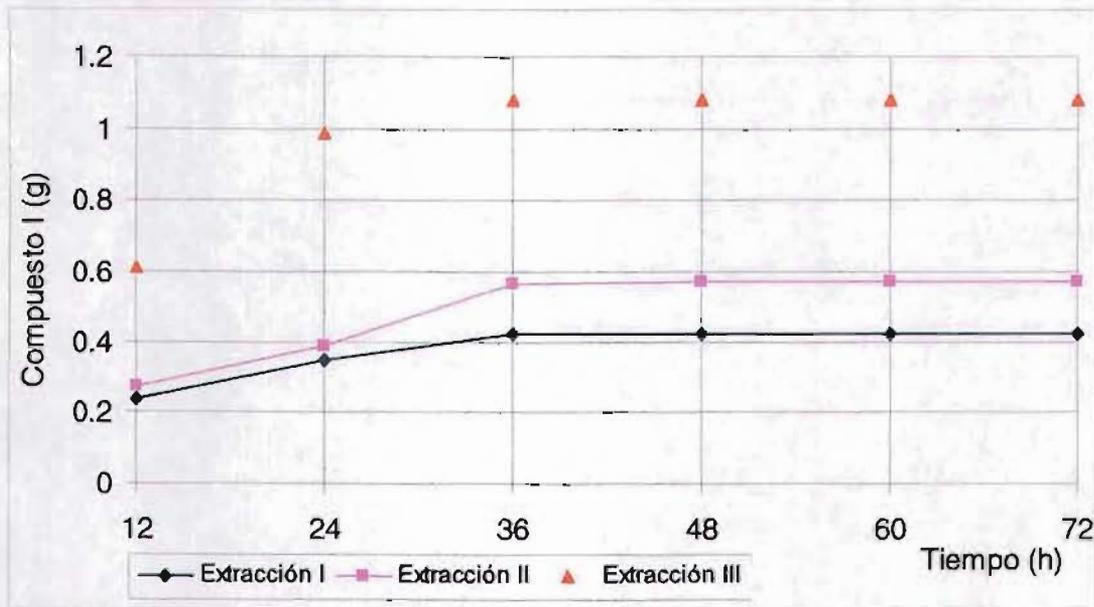
● En la fase de extracción del colorante (Extracciones I, II y III) para obtener el Rojo I, se tuvo entre sus propósitos, cumplir con las siguientes metas (que se sintetizan en la Figura 16):

- ◆ Ahorro de tiempo
- ◆ Ahorro de disolventes
- ◆ Obtención de un mayor rendimiento

A continuación se analiza cuál de los tres tipos de extracción cumplió con las metas referidas. Se empezará con el ahorro de tiempo, después con el ahorro de disolvente, para inferir en cual extracción se tiene un mayor rendimiento.

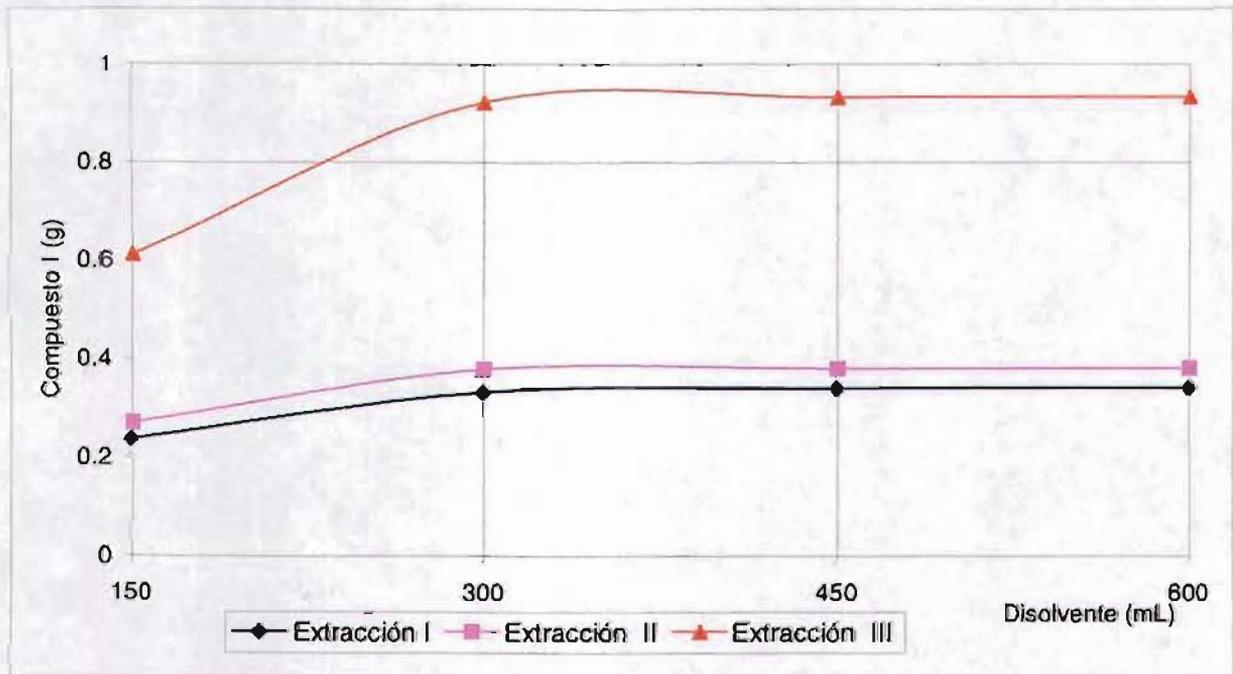
◆ Ahorro de tiempo: Con las mismas cantidades de disolvente y de materia prima, las Extracciones I, II y III (descritas en el Capítulo anterior), se realizaron con tiempos de 12, 24, 36, 48, 60 y 72 horas; al finalizar cada lapso, se evaporó el metanol a presión reducida y se obtuvo un polvo rojo (Rojo I), cuyos rendimientos y ahorros de tiempo se presentan en la Figura 26.

Se observa que después de las 36 horas no varía significativamente el producto en ninguno de los tres experimentos. Se visualiza en la gráfica que, desde las primeras doce horas, se obtiene un rendimiento en peso mayor con la Extracción III y que a partir de la 36 horas dicho rendimiento se mantiene constante; de ahí que se puede utilizar la Extracción III y detenerla a las 36 horas sin esperar que se cumplan las 72 horas, con la certeza de que en ese lapso se tendrá el mayor rendimiento en peso, en relación con las Extracciones I y II.



**Figura 26. Gráfica de rendimiento y tiempo para *Nocheztli***

◆ Ahorro de disolvente: Se varió la cantidad de disolvente en las tres Extracciones (Figura 27) y se mantuvieron constantes la cantidad de materia prima y tiempo; cada 12 horas se cambiaban los 150 mL de metanol y se unían las disoluciones a las 24 horas (300 mL), 36 horas (450 mL) y 48 horas (600 mL). Al final se evapora el metanol a presión reducida y queda un polvo rojo (Rojo I).



**Figura 27. Gráfica de rendimiento y disolvente para *Nocheztli***

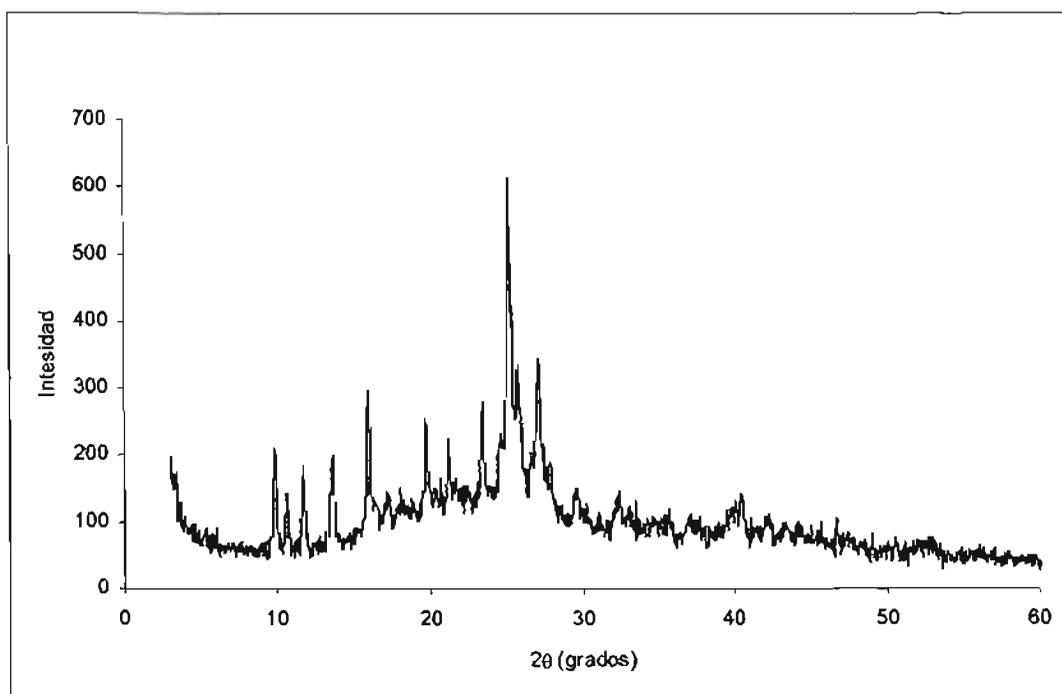
En la Figura 27 que representa las cantidades en gramos del Rojo I, obtenidas con 150, 300, 450 y 600 mL de disolvente, se observa lo siguiente:

Se sabe que cuando se realiza una extracción la disolución se puede saturar, esto es, a partir de alguna cantidad de disolvente, difícilmente se extraerá una cantidad adicional de material orgánico; es por ello que se recomienda cambiar el disolvente para no llegar a este punto. Se realizaron cambios de disolvente hasta las 48 horas, no obstante que se observó que a partir de las 24 horas el producto permaneció constante.

A partir de los 300 mL de disolvente, no se registró ningún aumento de rendimiento en peso y la Extracción III es la más eficiente. A ese volumen, se está cerca de la cantidad máxima de Rojo I obtenida, misma que está muy por encima de la que se produce con las Extracciones I y II.

◆ Rendimiento: Se concluye que el mayor rendimiento en peso se obtiene con la Extracción III en el menor tiempo (36 horas) y con la menor cantidad de disolvente (150 mL). Por el contrario el menor rendimiento se logra con la Extracción I.

El denominado Rojo I es lo que se llama colorante al 50% y se utiliza en la industria textil.

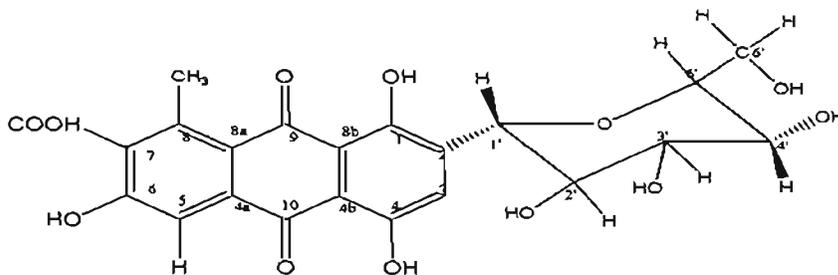


**Figura 28. Difractograma de rayos X del Rojo I**

☞ Del Rojo I se obtuvo la difracción de rayos X, infrarrojo, resonancia magnética de protón, de <sup>13</sup>Carbono y espectroscopia ultravioleta cuyos resultados se presentan a continuación:

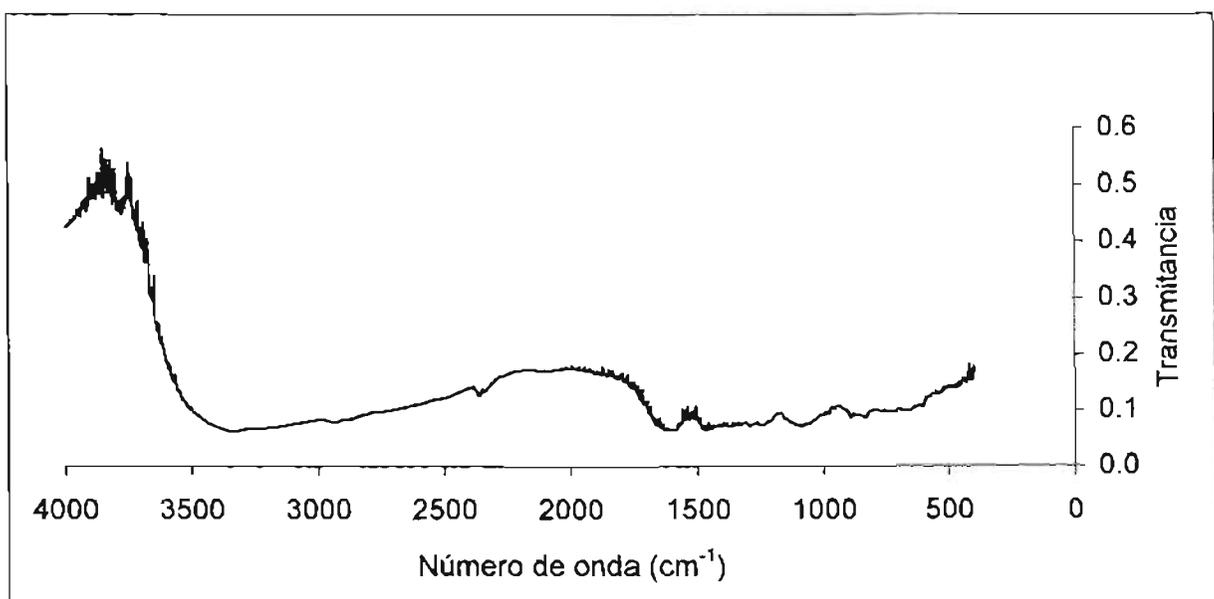
☞ En la Figura 28 se muestra el Difractograma de rayos X del Rojo I donde se observa por los picos que sólo una parte del Rojo I es cristalino.

☞ Infrarrojo. El Rojo I se caracterizó por espectroscopia de infrarrojo, con el fin de comparar los valores teóricos con los experimentales de los grupos funcionales del ácido carmínico y determinar qué grupos funcionales se encuentran presentes en la muestra.



**Figura 29. Estructura del ácido carmínico**

El color rojo se debe a la presencia de ácido carmínico (Figura 29) el cual es un compuesto formado por una hidroxiantraquinona enlazada a una glucosa. El nombre del compuesto es: Ácido-7-β-D-glucopiranosil-9,10-dioxo-1-metil-3,5,6,8-tetrahydroxi-antracencarboxílico<sup>13</sup>.



**Figura 30. Espectro de infrarrojo de Rojo I**

Conforme a las bandas del espectro de Infrarrojo de los grupos funcionales del ácido carmínico, se observa en la Tabla 6, que los valores de los metilos, alcoholes, carbonilos, aromáticos y azúcares del Rojo I son muy cercanos a los valores teóricos. Ello indica que se tienen grupos funcionales similares a los del ácido carmínico.

**Tabla 6. Bandas del espectro de infrarrojo de los grupos funcionales del ácido carmínico**

	Metilos (cm <sup>-1</sup> )	Alcoholes (cm <sup>-1</sup> )	Gr. Carbonilo (cm <sup>-1</sup> )	Aromático (cm <sup>-1</sup> )	Azúcar (cm <sup>-1</sup> )
Reportados	δas 1460 δs 1380	v 3650-3200 δ 1500-1300 v 1200-1050	v 3500-2500 δ 1420-1200 v 1725-1700	v 3150-3050 1,2-disustituido 770-735 1,2,4-trisustituido 825-805	917 844 766
Rojo I	δas 1464 δs 1377	v 3338-3200 δ 1500-1300 v 1264-1085	v 3500-2500 δ 1427-1238	v 3150-3050 1,2-disustituido 744 1,2,4-trisustituido 827-806	918 849

☞ Ultravioleta. La región visible del espectro electromagnético es adyacente a la región ultravioleta y se extiende aproximadamente de 400 a 800 nm; los compuestos coloridos tienen sistemas de conjugación tan extendidos que sus absorciones UV se extienden dentro de la región visible. El ácido carmínico presenta un sistema extendido de conjugación de electrones π que da origen a una absorción en la región visible del espectro electromagnético. La absorbancia máxima se ubica en el intervalo de 490-500 nm, el cual se encuentra en la región visible; el valor experimental máximo obtenido fue de 494 nm, esto es, se encuentra dentro del intervalo mencionado.

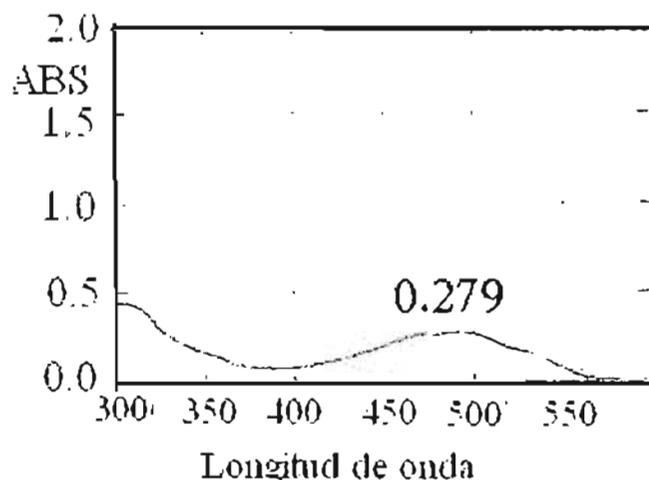
Con el fin de contrastar los espectros de UV, el Rojo I se comparó con una muestra de polvo de cochinilla con grasa de la siguiente forma:

Se tomó una muestra de polvo de cochinilla con grasas que se sometió a espectroscopia de ultravioleta visible (UV); el valor de la absorbancia a una longitud de onda de 494 nm fue de 0.279. Cabe señalar que este valor forma parte de un parámetro utilizado en el mercado de la cochinilla, para determinar el porcentaje de ácido carmínico en el insecto, este valor se obtiene de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ ácido carmínico} = (A \times 100) / 1.39$$

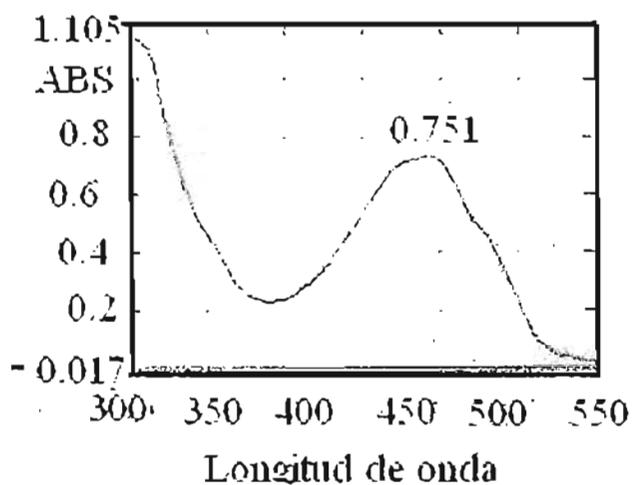
Donde

A: lectura de la absorbancia a 494 nm y 1.39: absorbancia del ácido carmínico al 100%



**Figura 31. Espectro de UV del polvo molido**

Por su parte, el espectro del Rojo I, a una longitud de onda de 494 nm registró un valor de absorbancia de 0.751; se observó un aumento en el valor de la absorbancia en contraste con el polvo molido.

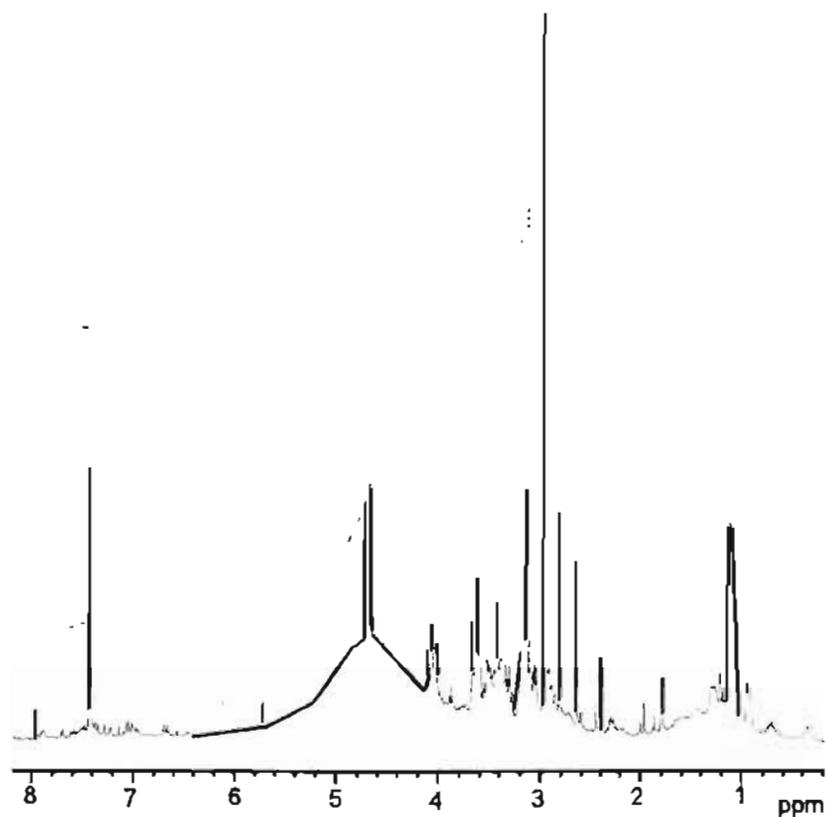


**Figura 32. Espectro de UV de Rojo I (Colorante al 50%)**

↪ Resonancia magnética nuclear de protón y <sup>13</sup>Carbono

Espectro de protón.

En la molécula del ácido carmínico los hidrógenos que fácilmente podemos identificar en Resonancia protónica son los que corresponden al metilo que esta soportado en C8 y el de C5, con respecto a la estructura de la antraquinona y además los hidrógenos del azúcar<sup>14</sup>.



**Figura 33. Espectro de protón Rojo I**

**Tabla 7. Señales de protón del ácido carmínico**

	$\delta(H-5)$	$\delta(H-8)$	$\delta(H-1')$	$\delta(H-2')$	$\delta(H-3')$	$\delta(H-4')$	$\delta(H-5')$	$\delta(H-6'a)$	$\delta(H-6'b)$
Valor Reportado <sup>14</sup>	7.70	3.02	4.72	4.02	3.22	3.24	3.17	3.69	3.43
Rojo I	7.429	3.181	4.717	4.118	3.181	3.25	3.181	3.691	3.71

Se observa en la Tabla anterior que los valores del compuesto son cercanos a los reportados también se puede notar la presencia de otros compuestos.

Espectro de carbono.

Todos los carbonos aromáticos se pueden encontrar en bajo campo alrededor de 100 ppm, y los carbonos de la glucosa se observan entre 60 y 80 ppm.

El grupo metilo puede identificarse como el que aparece en 19.8 ppm.

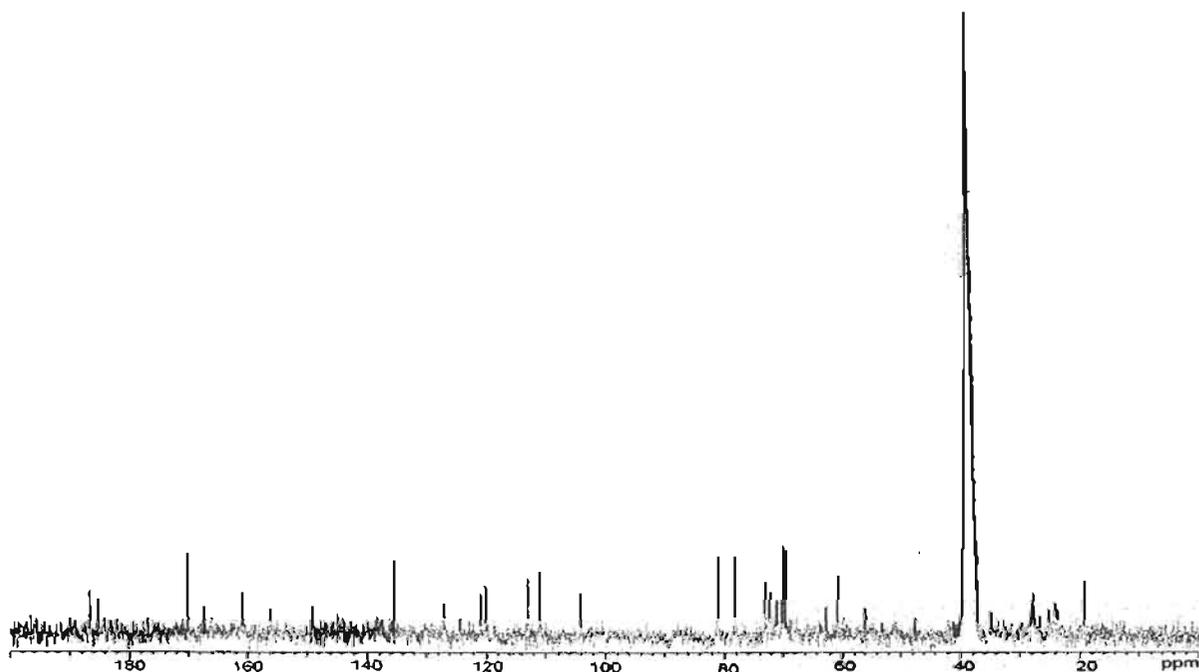
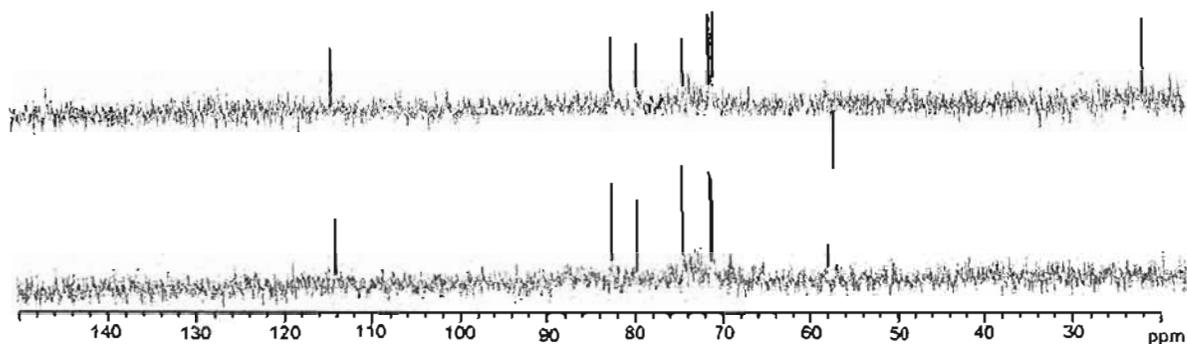


Figura 34. Espectro de  $^{13}\text{C}$  Carbono de Rojo I

Tabla 8. Bandas de  $^{13}\text{C}$  Carbono de Rojo I

	Reportado	Rojo I		Reportado	Rojo I		Reportado	Rojo I
<b>C-1</b>	157.9	156.288	<b>C-4a</b>	111.3	111.345	<b>C-1'</b>	73.2	73.620
<b>C-2</b>	121.3	121.330	<b>C-4b</b>	135.6	135.592	<b>C-2'</b>	70.4	70.543
<b>C-3</b>	154.0	-----	<b>C-8a</b>	123.1	121.333	<b>C-3'</b>	78.6	78.927
<b>C-4</b>	147.6	147.044	<b>C-8b</b>	105.0	104.427	<b>C-4'</b>	81.7	81.785
<b>C-5</b>	111.4	113.452	<b>C-9</b>	186.0	186.498	<b>C-5'</b>	70.3	70.332
<b>C-6</b>	159.8	159.736	<b>C-10</b>	186.2	189.498	<b>C-6'</b>	61.3	61.446
<b>C-7</b>	131.9	-----	<b>COOH</b>	167.9	167.347			
<b>C-8</b>	140.1	-----	<b>CH<sub>3</sub></b>	19.8	20.760			

Una técnica auxiliar para la identificación de  $^{13}\text{C}$  Carbono es la conocida como Distortionless Enhancement by Polarization Transfer (DEPT) que permite diferenciar señales debidas a  $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2$  y  $\text{CH}$ .



**Figura 35. Espectro DEPT para Rojo I**

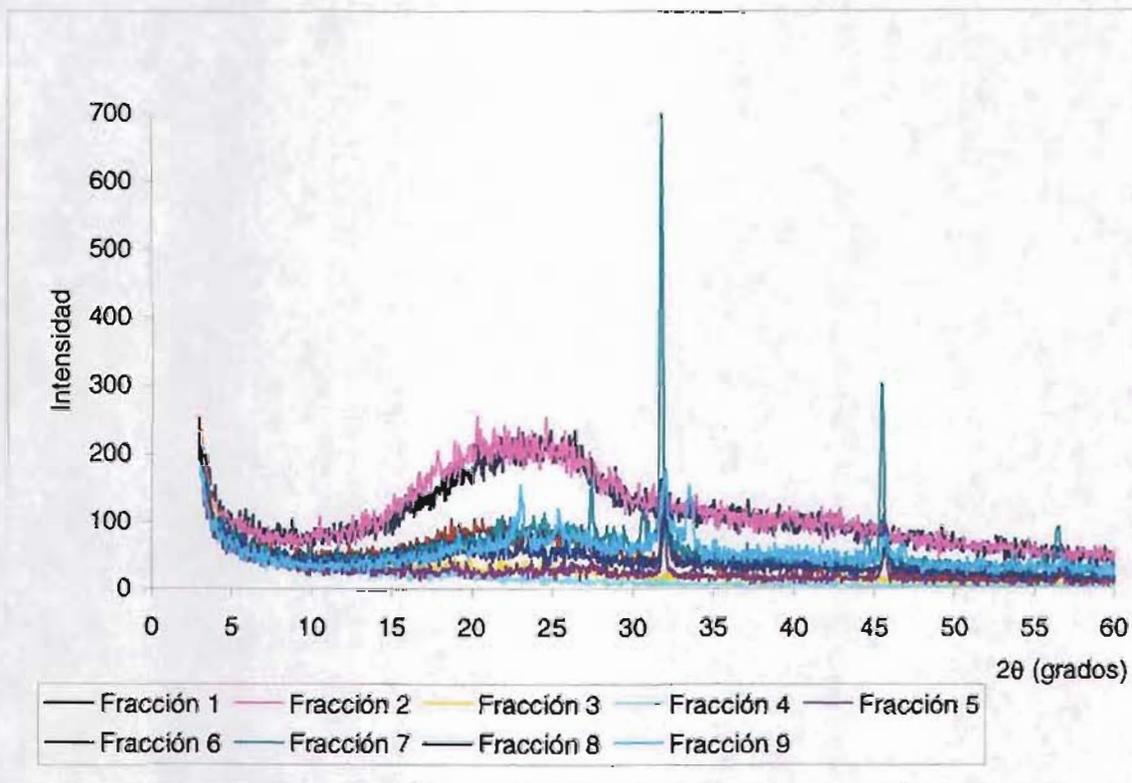
En la segunda fase del experimento el Rojo I se sometió a cromatografía en columna y se obtuvo el Rojo II (cristalización de par de disolventes) y el Violeta I (lavados con disolventes). De su análisis se desprenden los siguientes resultados:

● **Cromatografía en columna**

Puesto que se observó la presencia de otros compuestos, se realizó la cromatografía en columna para separar el ácido de esas impurezas, con el fin de obtenerlo en su forma más pura posible. En esta fase se presentó el problema inicial de que el ácido se retenía en la columna, aparecía en todas la fracciones y disminuía cuando se terminaba de eluir la columna con agua. Por eso, con base en los resultados obtenidos en cromatografía en capa fina y por infrarrojo, se decidió unir los polvos obtenidos en esta etapa, como se mencionó en la parte experimental; las fracciones se juntaron en dos grupos: a) grupo I la fracción 1 al 6 y b) grupo II la fracción 7 al 9.

Algunos de los compuestos resultantes se obtuvieron en cantidades muy pequeñas, por lo que era muy difícil aplicar todas las técnicas de caracterización.

No obstante, lo único que se pudo obtener fue el difractograma de rayos X de todos los compuestos, el cual se muestra a continuación:



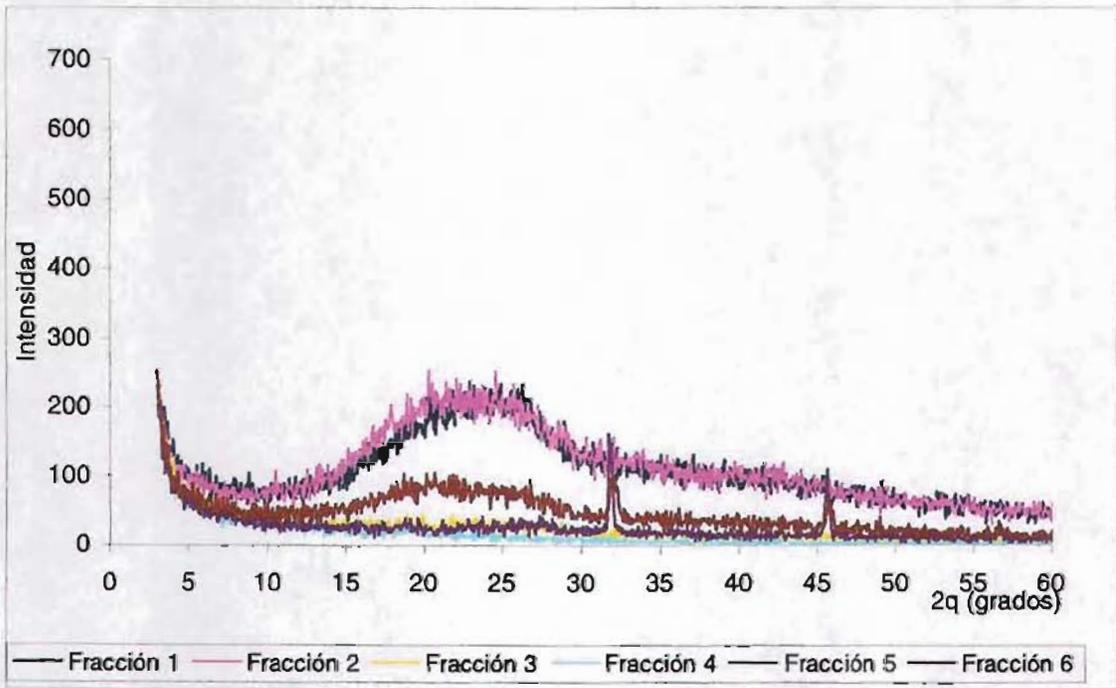
**Figura 36. Difractograma de rayos X de las fracciones obtenidas por cromatografía en columna**

Se observa que existen compuestos amorfos y cristalinos, con base en el difractograma de rayos X (Fig. 36).

En los espectros de resonancia magnética nuclear protónica, en donde las señales también difieren en las fracciones de los grupos I y II.

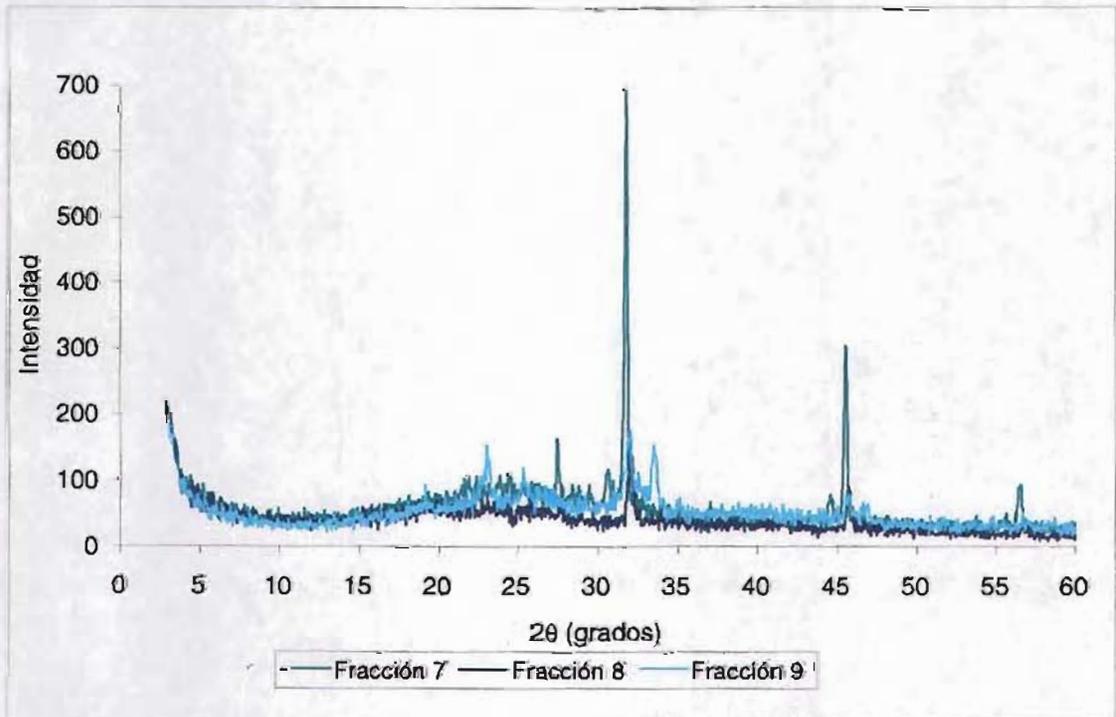
Las características moleculares de las fracciones del grupo I son iguales entres sí, de la misma manera que ocurre en las fracciones del grupo II.

Difractograma del grupo I, fracciones 1 a 6.



**Figura 37. Difractograma de rayos X cromatografía en columna grupo I**

Difractograma del grupo II, fracciones de 7 a 9



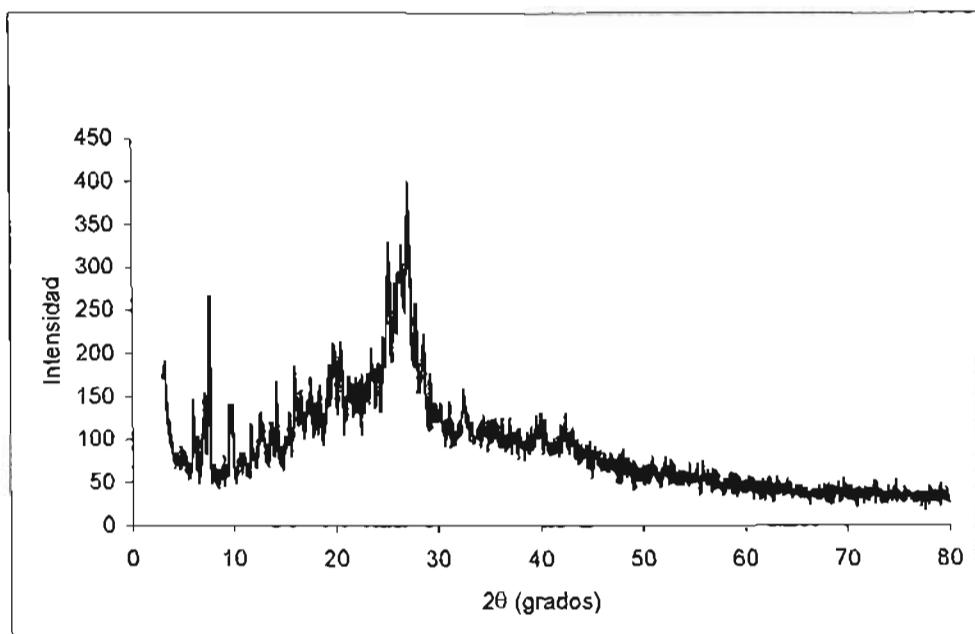
**Figura 38. Difractograma de rayos X cromatografía en columna grupo II**

### ✿ Obtención de Rojo II y Violeta I

El grupo I integrado por las fracciones 1 a 6, que en su mayoría son estructuras amorfas, se sometió a una cristalización por par de disolventes con la que se obtuvo el Rojo II. A las muestras del grupo II integrado por las fracciones 7 a 9, que en su mayoría son cristalinos, se le realizaron lavados con diferentes disolventes para obtener el Violeta I.

El Rojo II corresponde al ácido carmínico obtenido de la manera más pura, en función de los métodos aplicados, según se corrobora al efectuar las siguientes técnicas de análisis:

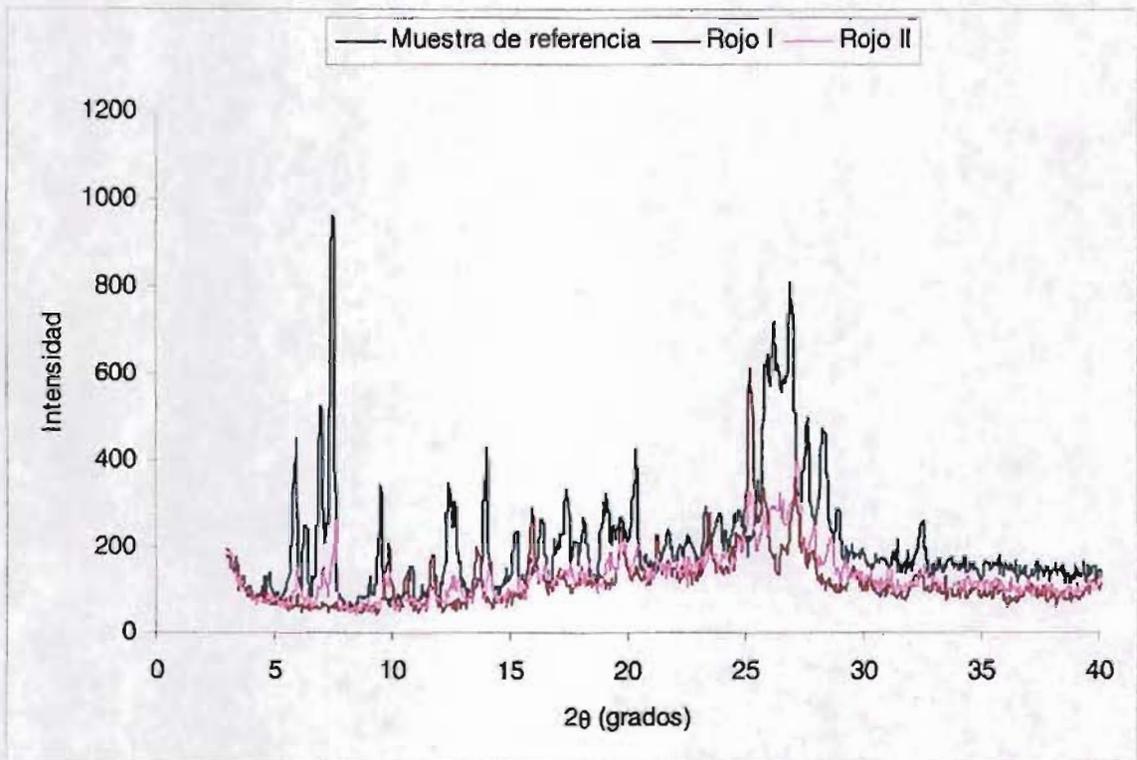
### ☞ Rayos X



**Figura 39. Difractograma de rayos X de Rojo II**

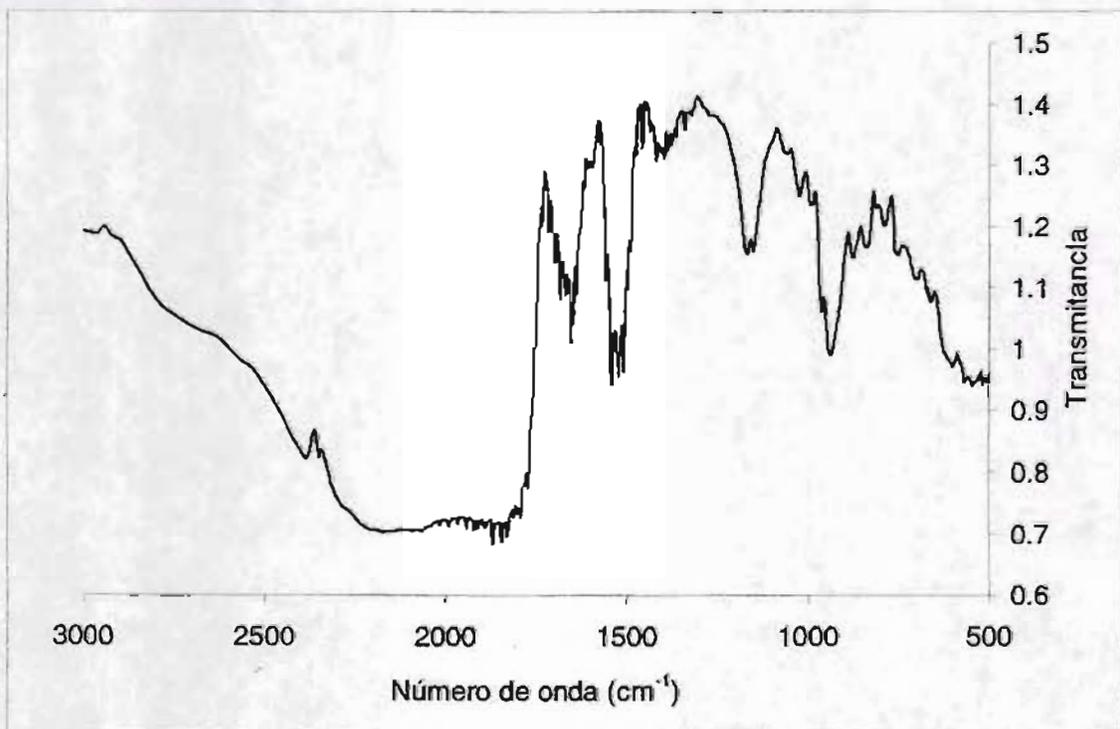
El difractograma de rayos X ( Fig. 39), del Rojo II muestra que es un compuesto “cristalino”.

Tomando como referencia el ácido carmínico comercial (Aldrich) se observa en el difractograma de rayos X (Fig. 40) que el Rojo II comparado con el compuesto comercial coincide en todos los picos; la menor intensidad se debe al tamaño de la muestra; si sólo se tomaran rayos X se diría que el compuesto es cristalino y puro. Por su parte, el Rojo I al ser comparado con el ácido carmínico comercial da como resultado que no coincide en su totalidad, esto es debido a la existencia de impurezas.



**Figura 40. Comparación de difractogramas de rayos X**

☞ Infrarrojo



**Figura 41. Espectro de infrarrojo ácido carmínico (Rojo II)**

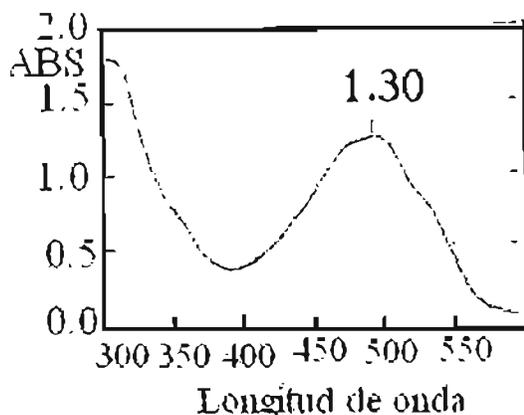
**Tabla 10. Bandas del espectro de infrarrojo de los grupos funcionales del ácido carmínico**

	<b>Metilos (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Alcoholes (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Grupo Carbonilo (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Aromático (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Azúcar (cm<sup>-1</sup>)</b>
Reportados	δas 1460 δs 1380	ν 3650-3200 δ 1500-1300 ν 1200-1050	ν 3500-2500 δ 1420-1200 ν 1725-1700	ν 3150-3050 1,2-disustituido 770-735 1,2,4-trisustituido 825-805	917 844 766
Rojo II	δas 1464 δs 1387	ν 3371-3200 δ 1500-1300 ν 1204-1085	ν 3500-2500 δ 1421-1209 ν 1722	ν 3150-3050 1,2- disustituido 764 1,2,4- trisustituido 822-804	918 850

La Tabla 10 muestra que las bandas coinciden en su totalidad (los valores reportados con los experimentales), lo que significa que estamos en presencia de los mismos grupos funcionales.

#### ☞ Ultravioleta

En el espectro (Figura 41) se puede ver que va aumentando la transmitancia, el valor de la absorbancia a una longitud de onda de 494 nm fue de 1.30.



**Figura 41. Espectro de ultravioleta del ácido carmínico (Rojo II)**

#### ☞ Resonancia magnética nuclear de protón y <sup>13</sup> Carbono

Espectro de protón

Se esperaba la coincidencia de las bandas reportadas con las experimentales debido a que el Rojo II se sometió a un proceso adicional de purificación.

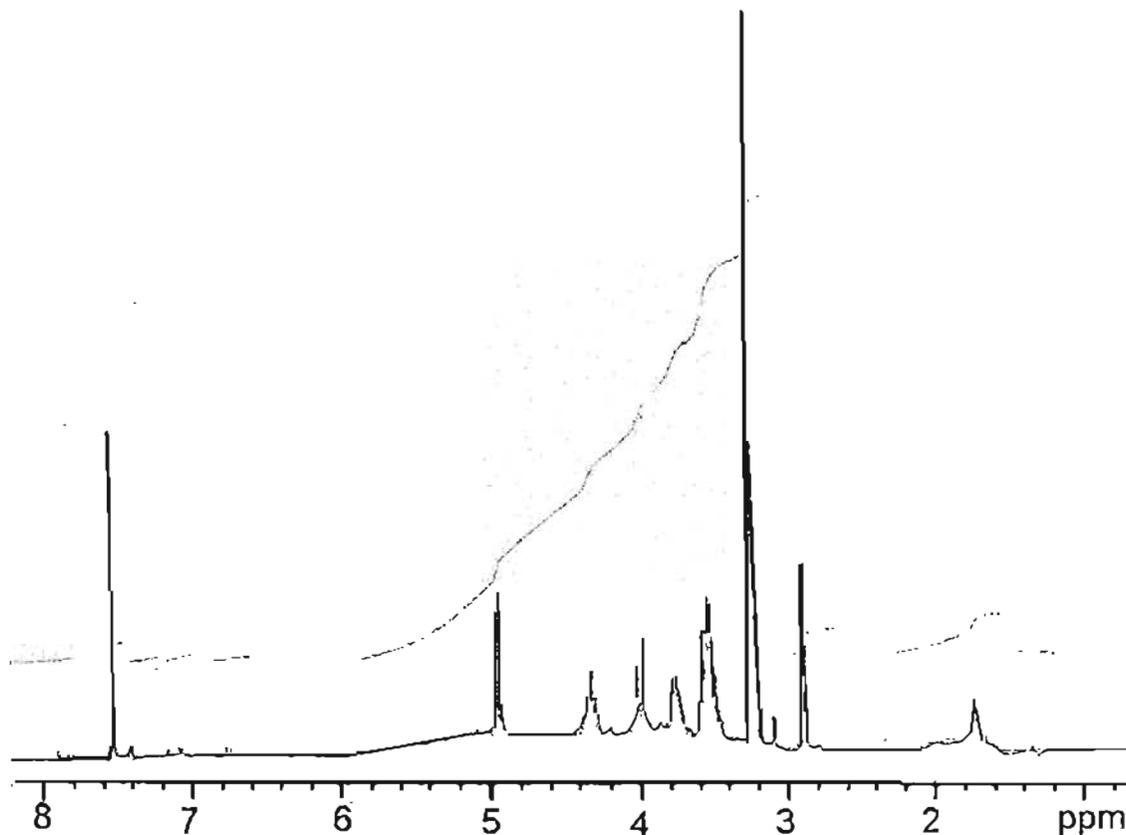


Figura 42. Espectro de protón del ácido carmínico (Rojo II)

En las Tablas 11 y 12 se observa que los valores experimentales son similares a los reportados, conforme a lo esperado, aun cuando se tiene presencia de otras señales, lo que significa que persisten algunas impurezas.

Tabla 11. Señales de protón del ácido carmínico (Rojo II)

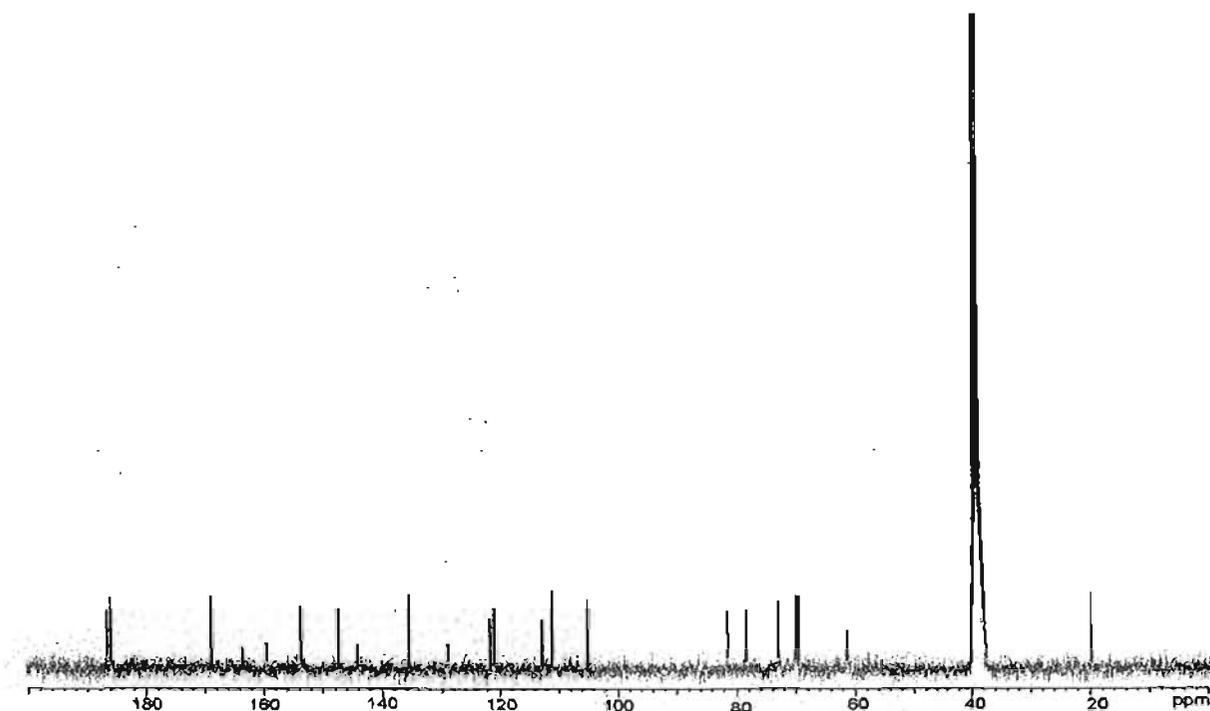
	$\delta(\text{H-5})$	$\delta(\text{H-8})$	$\delta(\text{H-1}')$	$\delta(\text{H-2}')$	$\delta(\text{H-3}')$	$\delta(\text{H-4}')$	$\delta(\text{H-5}')$	$\delta(\text{H-6}'\text{a})$	$\delta(\text{H-6}'\text{b})$
Valores Reportados	7.70	3.02	4.72	4.02	3.22	3.24	3.17	3.69	3.43
Rojo II	7.482	3.145	4.67	3.993	3.228	3.204	3.175	3.712	3.43

Tabla 12. Algunas constantes de acoplamiento (J) del ácido carmínico (Rojo II)

	$J(\text{H-1}',\text{H-2}')$	$J(\text{H-2}',\text{H-3}')$	$J(\text{H-5}',\text{H-6}'\text{a})$	$J(\text{H-5}',\text{H-6}'\text{b})$	$J(\text{H-6}'\text{a},\text{H-6}'\text{b})$
Valores Reportados	9.9	9.2	6.0	1.2	11.6
Rojo II	9.6	9	5.4	----	11.1

## Espectro de Carbono

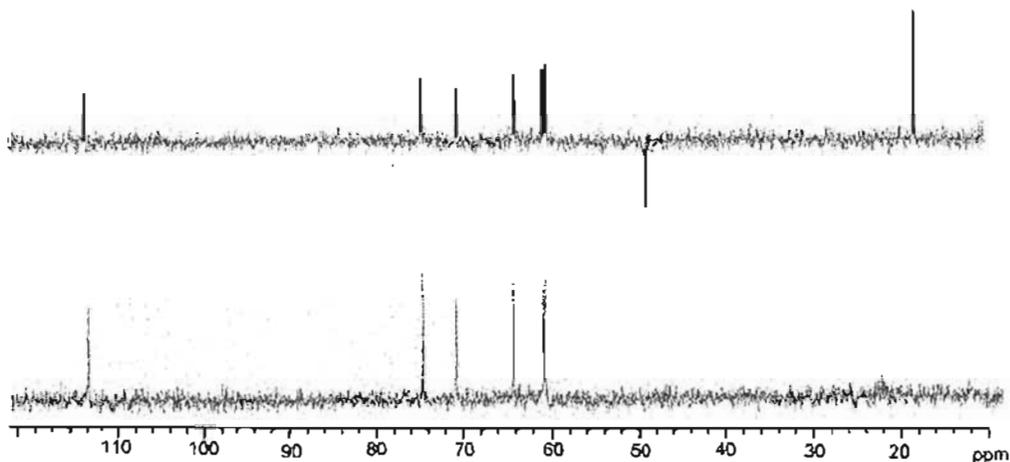
Los valores experimentales se muestran similares respecto de los reportados y se ven escasas impurezas.



**Figura 43. Espectro de carbono del ácido carmínico (Rojo II)**

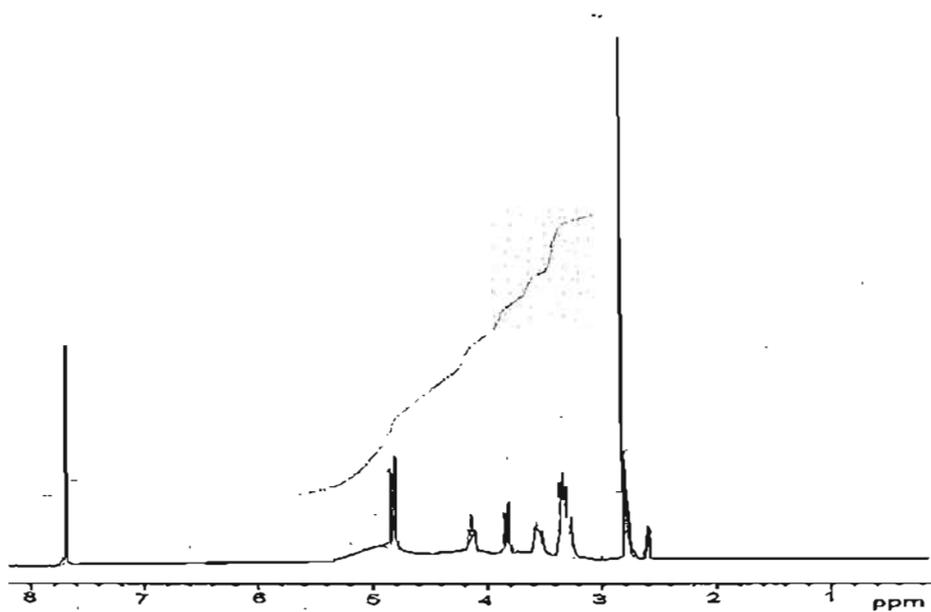
**Tabla 13. Señales de carbono del ácido carmínico (Rojo II)**

	Reportado	Rojo II		Reportado	Rojo II		Reportado	Rojo II
<b>C-1</b>	157.9	159.930	<b>C-4a</b>	111.3	111.439	<b>C-1'</b>	73.2	73.323
<b>C-2</b>	121.3	121.266	<b>C-4b</b>	135.6	135.663	<b>C-2'</b>	70.4	70.309
<b>C-3</b>	154.0	153.930	<b>C-8b</b>	123.1	121.729	<b>C-3'</b>	78.6	78.748
<b>C-4</b>	147.6	147.537	<b>C-8b</b>	105.0	105.159	<b>C-4'</b>	81.7	81.790
<b>C-5</b>	111.4	113.439	<b>C-9</b>	186.0	186.074	<b>C-5'</b>	70.3	70.323
<b>C-6</b>	159.8	129.117	<b>C-10</b>	186.2	186.747	<b>C-6'</b>	61.3	61.379
<b>C-7</b>	131.9	129.117	<b>COOH</b>	167.9	168.929			
<b>C-8</b>	140.1	144.117	<b>CH<sub>3</sub></b>	19.8	20.277			



**Figura 44. Espectro DEPT del ácido carnínico (Rojo II)**

A continuación se muestran los espectros de resonancia magnética de protón, de  $^{13}\text{C}$ Carbono y de infrarrojo del compuesto comercial, con el fin de verificar la pureza del Rojo I; al comparar los valores del compuesto comercial con los del Rojo II son similares.



**Figura 45. Espectro de protón del ácido carnínico (c. comercial)**

**Tabla 14. Señales de protón del ácido carnínico (c. comercial)**

	$\delta(\text{H-5})$	$\delta(\text{H-8})$	$\delta(\text{H-1}')$	$\delta(\text{H-2}')$	$\delta(\text{H-3}')$	$\delta(\text{H-4}')$	$\delta(\text{H-5}')$	$\delta(\text{H-6}'a)$	$\delta(\text{H-6}'b)$
Comercial	7.6	3.11	4.71	4.01	3.22	3.25	3.17	3.71	3.4
Rojo II	7.482	3.145	4.67	3.993	3.228	3.204	3.175	3.712	3.43

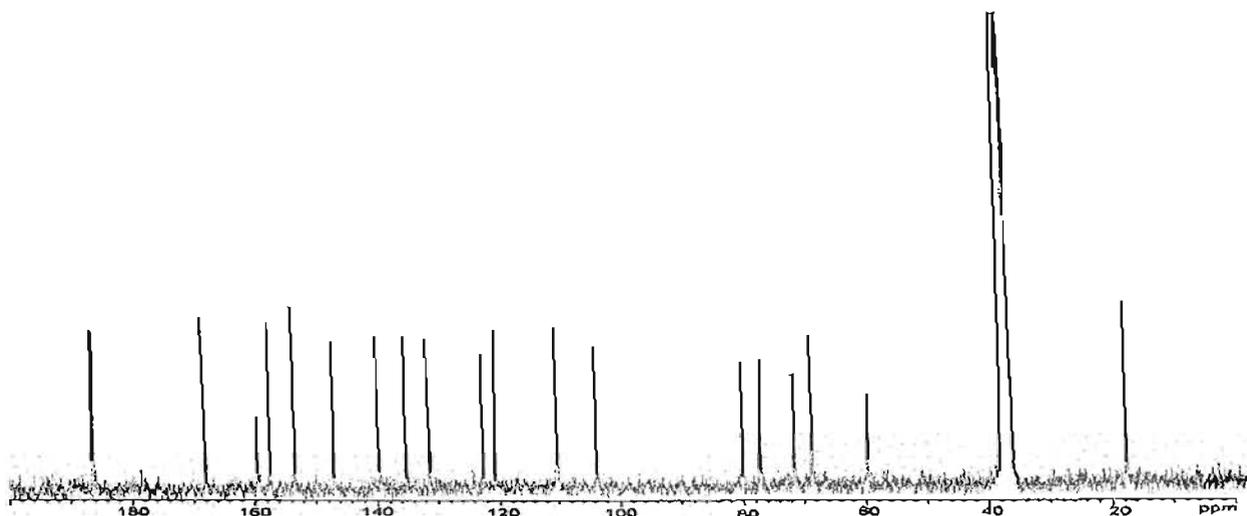


Figura 46. Espectro de carbono del ácido carmínico (c. comercial)

Tabla 15. Señales de carbono del ácido carmínico (c. comercial)

	Comercial	Rojo II		Comercial	Rojo II		Comercial	Rojo II
C-1	158.0	159.930	C-4a	111.6	111.439	C-1'	73.3	73.323
C-2	121.3	121.266	C-4b	135.7	135.663	C-2'	70.6	70.309
C-3	154.2	153.930	C-8a	123.2	121.729	C-3'	78.8	78.748
C-4	147.7	147.537	C-8b	-----	105.159	C-4'	81.8	81.790
C-5	111.6	113.439	C-9	186.1	186.074	C-5'	70.4	70.323
C-6	159.9	129.117	C-10	186.3	186.747	C-6'	61.5	61.379
C-7	132.2	129.117	COOH	168.3	168.929			
C-8	140.2	144.117	CH <sub>3</sub>	20.1	20.277			

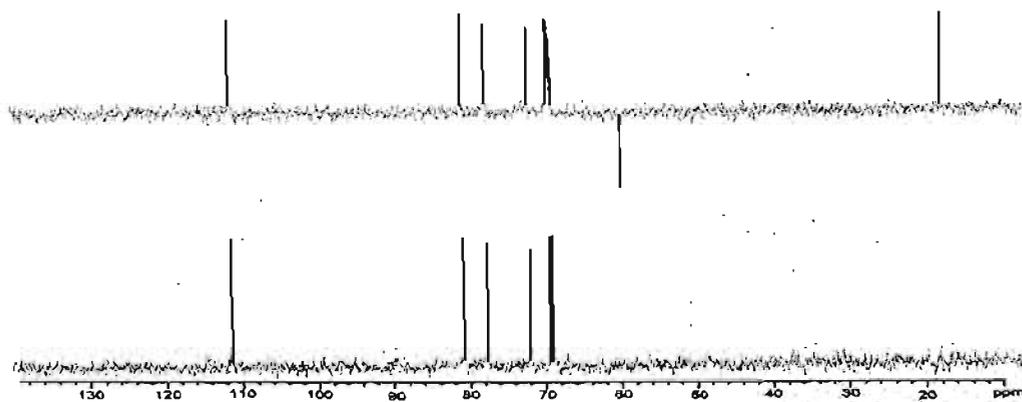
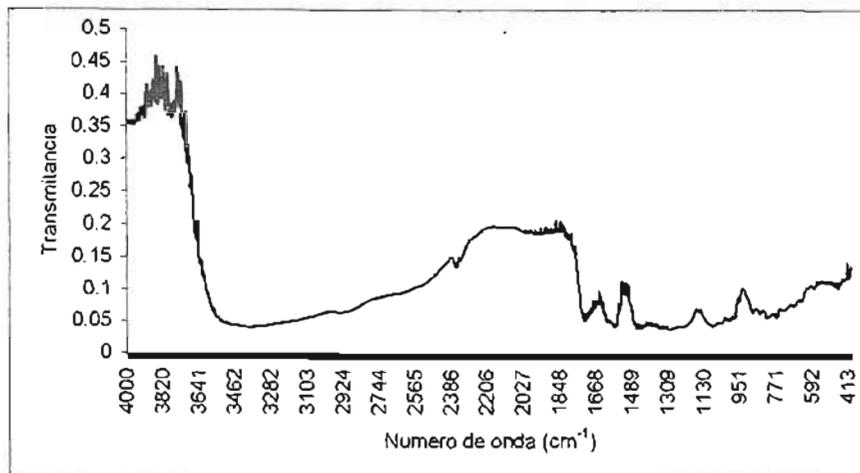


Figura 47. Espectro DEPT del ácido carmínico (c. comercial)



**Figura 48. Espectro de Infrarrojo (c. comercial)**

**Tabla 16.- Bandas de infrarrojo (c. comercial)**

	Metilos (cm <sup>-1</sup> )	Alcoholes (cm <sup>-1</sup> )	Grupo Carbonilo (cm <sup>-1</sup> )	Aromático (cm <sup>-1</sup> )	Azúcar (cm <sup>-1</sup> )
Comercial	δ <sub>as</sub> 1464 δ <sub>s</sub> 1387	ν 3371-3200 δ 1510-1300 ν 1200-1085	ν 3500-2500 δ 1421-1209 ν 1722	ν 3150-3050 1,2-disustituido 764 1,2,4-trisustituido 822-804	918 850
Rojo II	δ <sub>as</sub> 1464 δ <sub>s</sub> 1387	ν 3371-3200 δ 1500-1300 ν 1204-1085	ν 3500-2500 δ 1421-1209 ν 1722	ν 3150-3050 1,2- disustituido 764 1,2,4- trisustituido 822-804	918 850

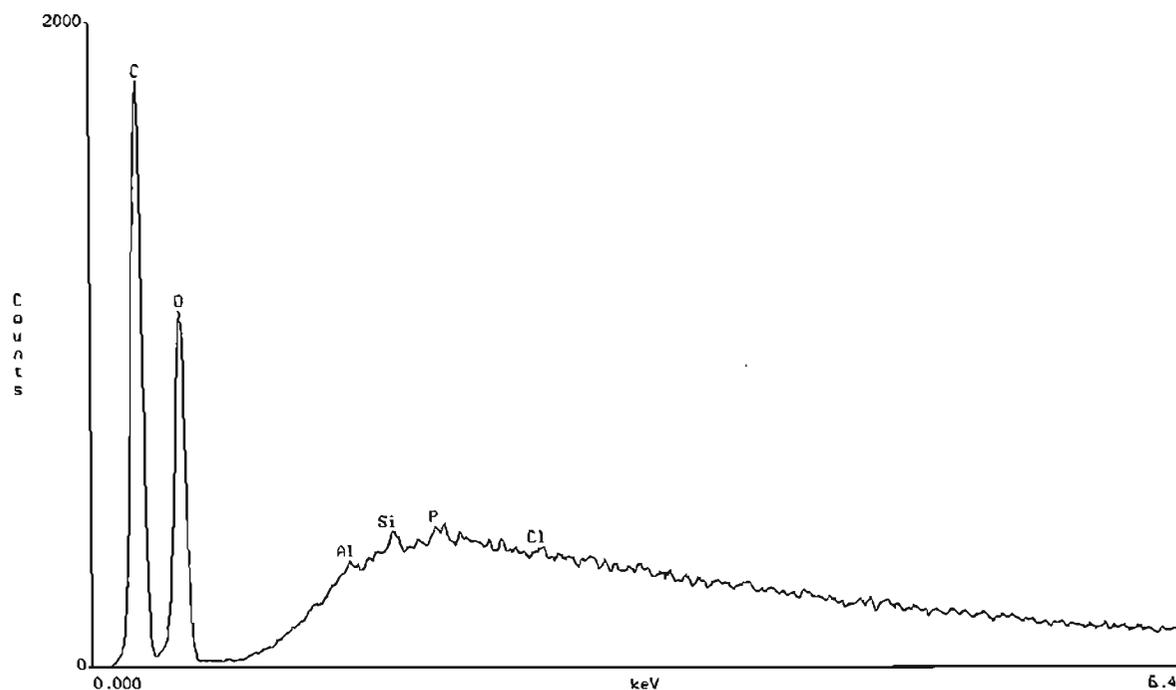
Se confirma que el Rojo II pertenece al ácido carmínico con alto grado de pureza, obtenido de la extracción de la cochinilla.

Una de las imágenes en el microscopio electrónico de barrido del Rojo II se presenta a continuación:



**Figura 49. Rojo II**  
Micrografía MEB  
Muestra: Ácido carmínico

La composición del ácido carmínico que se representa en el espectro de dispersión de energía en rayos X (Figura 46) y su Tabla correspondiente (14) muestran una fuerte presencia (99.66% del total) de carbono y oxígeno, aunque aparece silicio, aluminio, cloro y fósforo en cantidades mínimas (0.33% del total).



**Figura 50. Espectro de dispersión de energía en rayos X del ácido carmínico (Rojo II)**

**Tabla 17. Espectroscopia de dispersión de energía en rayos X del ácido carmínico (Rojo II)**

Element	k-ratio (calc.)	ZAF	Atom %	Element Wt %	Wt % Err. (1-Sigma)	No. of Cations
C -K	0,2613	1,814	54,71	47,41	+/- 0,42	29,212
O -K	0,1111	4,669	44,95	51,88	+/- 0,67	---
Al-K	0,0011	1,660	0,09	0,18	+/- 0,05	0,050
Si-K	0,0015	1,389	0,10	0,21	+/- 0,06	0,055
P -K	0,0017	1,310	0,10	0,22	+/- 0,06	0,053
Cl-K	0,0008	1,221	0,04	0,10	+/- 0,07	0,021
Total			100,00	100,00		29,391

## Violeta I

Aunque normalmente se piensa que el ácido carmínico es la única molécula de la cochinilla que da el color, se obtuvo un Violeta I que se encuentra en mayor proporción que el ácido carmínico.

La inspección del difractograma de algunas fracciones de la cromatografía en columna (Figura 48) permite suponer que existe un compuesto cristalino que coincide con una molécula llamada fucsina ácida (Figura 47) a la que denominaremos Violeta I. No obstante, en la caracterización por resonancia se observó la presencia de otras moléculas, lo que impide afirmar con seguridad que realmente nos encontremos en presencia de fucsina ácida.

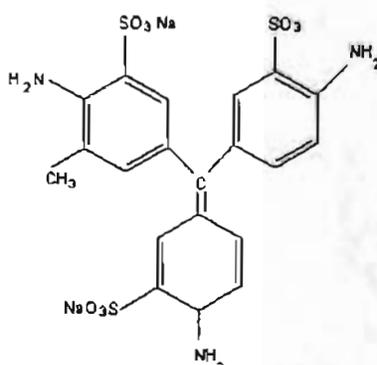


Figura 51. Estructura de la fucsina ácida

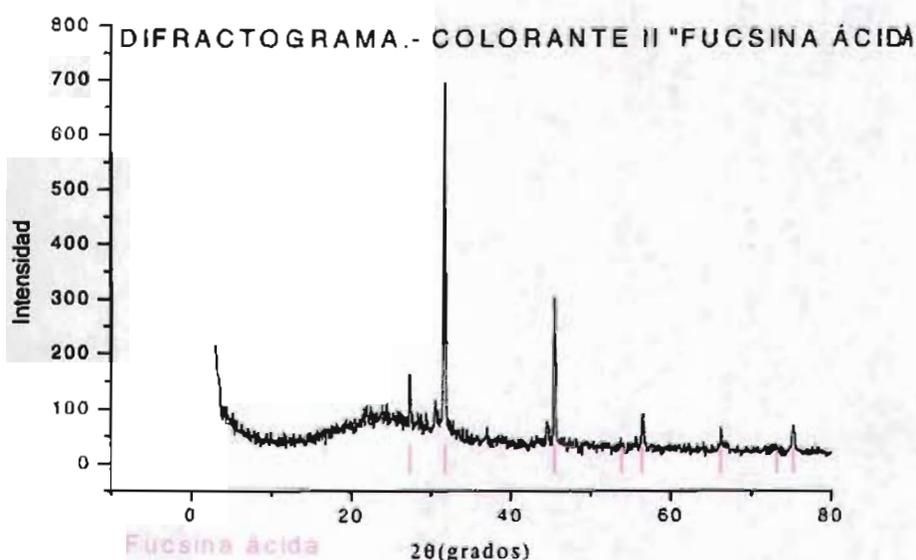


Figura 52. Difractograma de rayos X de Violeta I "Fucsina ácida"

## 8.1.2 EL COLORANTE EN EL INSECTO

### ☞ Fijación

Con el proceso de fijación se pretendió tratar el tejido del insecto con sustancias químicas, con varias finalidades, entre las que se encuentran:

- ❖ Conservar los tejidos de forma que muestren el mayor parecido posible a su estado in vivo.
- ❖ Aumentar la dureza del tejido para facilitar su preparación en películas finas.
- ❖ Destruir bacterias y gérmenes que pudieran encontrarse en los tejidos.
- ❖ Interrumpir los procesos celulares dinámicos que ocurren con la muerte de la célula.

Los reactivos químicos que se usaron en el proceso de fijación, fueron los siguientes:

- ❖ El paraformaldehído para permitir la conservación de detalles estructurales finos.
- ❖ El ácido pícrico para precipitar las proteínas.
- ❖ El KPBS para quitar el exceso del fijador.
- ❖ La sacarosa que permite romper los tejidos a los que da una consistencia suave.

### Inclusión o impregnación

Es recomendable que los tejidos sean incluidos y envueltos por una sustancia de consistencia firme, a fin de tener la factibilidad de obtener cortes suficientemente finos para ser observados al microscopio.

Los objetivos de la inclusión son: a) distinguir entre sí a las células superpuestas en un tejido, así como la matriz extracelular; b) tener un objeto lo suficientemente duro para su manejo y corte.

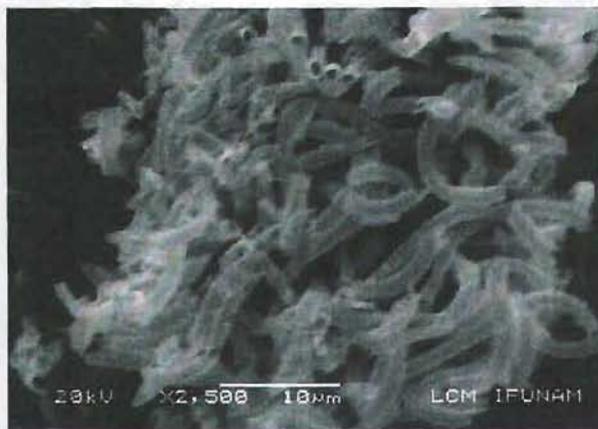
Conforme a los experimentos, se encontró que el ácido carnúico está presente en la mayor parte del cuerpo de la cochinilla y se ubica en la hemolinfa. Se desconoce el lugar de la síntesis, aunque los resultados de la investigación sugieren que se produce en los hemocitos (conjunto de células libres, llamados también corpúsculos sanguíneos), específicamente en los granulocitos presentes en la hemolinfa; cabe mencionar que otras investigaciones lo asignan a los cuerpos grasos<sup>15</sup>.

El corazón es fundamental para la circulación, pero en el caso de los insectos, el corazón no bombea sangre, sino hemolinfa, el cual es un líquido que puede ser incoloro, verde o rojo, según la especie. Los hemocitos son equivalentes a los glóbulos rojos de nuestro aparato circulatorio.

Los hemocitos se clasifican como prohemocitos, plasmotocitos, granulocitos, oenocitoides y adipohemocitos

Dentro de la hemolinfa se encuentran también cuerpos grasos.

Esta breve introducción puede apoyar la interpretación de lo observado en los diferentes microscopios. Los primeros cortes se realizaron a una hembra adulta; al momento de efectuar tales cortes se desprendían pequeñas bolitas de su cuerpo que se observaron en el microscopio óptico y en el confocal; las imágenes obtenidas a diferentes escalas se presentan a continuación:



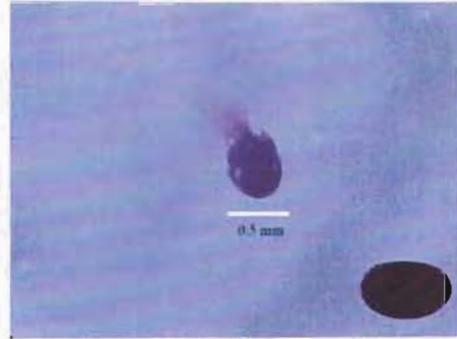
**Fig. 53. Grasa blanca que cubre el cuerpo de la cochinilla**  
Micrografía MEB  
Muestra de *Dactylopius coccus*



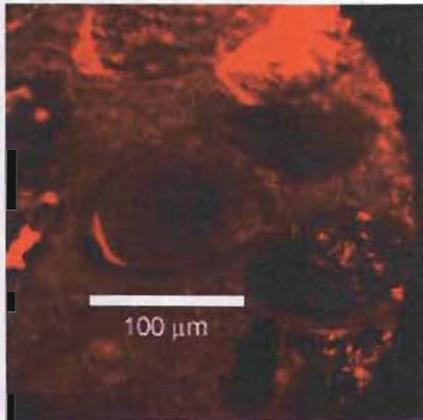
**Figura 54. Huevecillos**  
Micrografía óptica  
Muestra de *Dactylopius coccus*  
Aumento: 200 veces



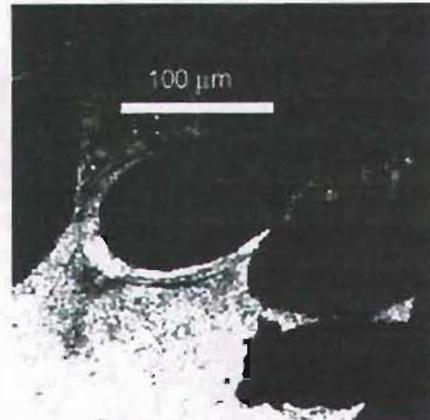
**Figura 55. Huevecillos**  
 Micrografía óptica  
 Muestra de *Dactylopius coccus*  
 Aumento: 500 veces



**Figura 56. Huevecillos**  
 Micrografía óptica  
 Muestra de *Dactylopius coccus*  
 Aumento: 500 veces



**Figura 57. Huevecillos**  
 Micrografía confocal  
 Muestra de *Dactylopius coccus*  
 Aumento: 150 veces



**Figura 58. Huevecillos**  
 Micrografía confocal (luz transmitida)  
 Muestra de *Dactylopius coccus*  
 Aumento: 150 veces

La imagen siguiente muestra la parte ventral de la hembra adulta; no tiene escala porque se tomó con la lupa del microcopio.



**Figura 59. Parte ventral del huevecillo**  
 Micrografía confocal  
 Muestra de *Dactylopius coccus*  
 Aumento: lupa

En las imágenes anteriores se pueden ver los huevos de la cochinilla; la hembra en estado adulto tiene hasta 100 huevos; al estar su cuerpo lleno de éstos, no se podía observar el interior del cuerpo, por ello, se decidió cortar la ninfa I, en el instante de la ovoposición de la hembra y se observó en los diferentes microscopios.

Fue de particular utilidad el microscopio de fluorescencia, debido a que el ácido carmínico fluoresce. Se utilizó el filtro B2 que fluoresce a 568 nm; así se identificó la longitud de onda en la fluorescencia, y se observó primero el compuesto comercial. A continuación se presentan las imágenes de la ninfa I en el microscopio de fluorescencia.



**Figura 60. Hemolinfa**  
Micrografía óptica  
Muestra de *Dactylopius coccus*  
Aumento: 400 veces

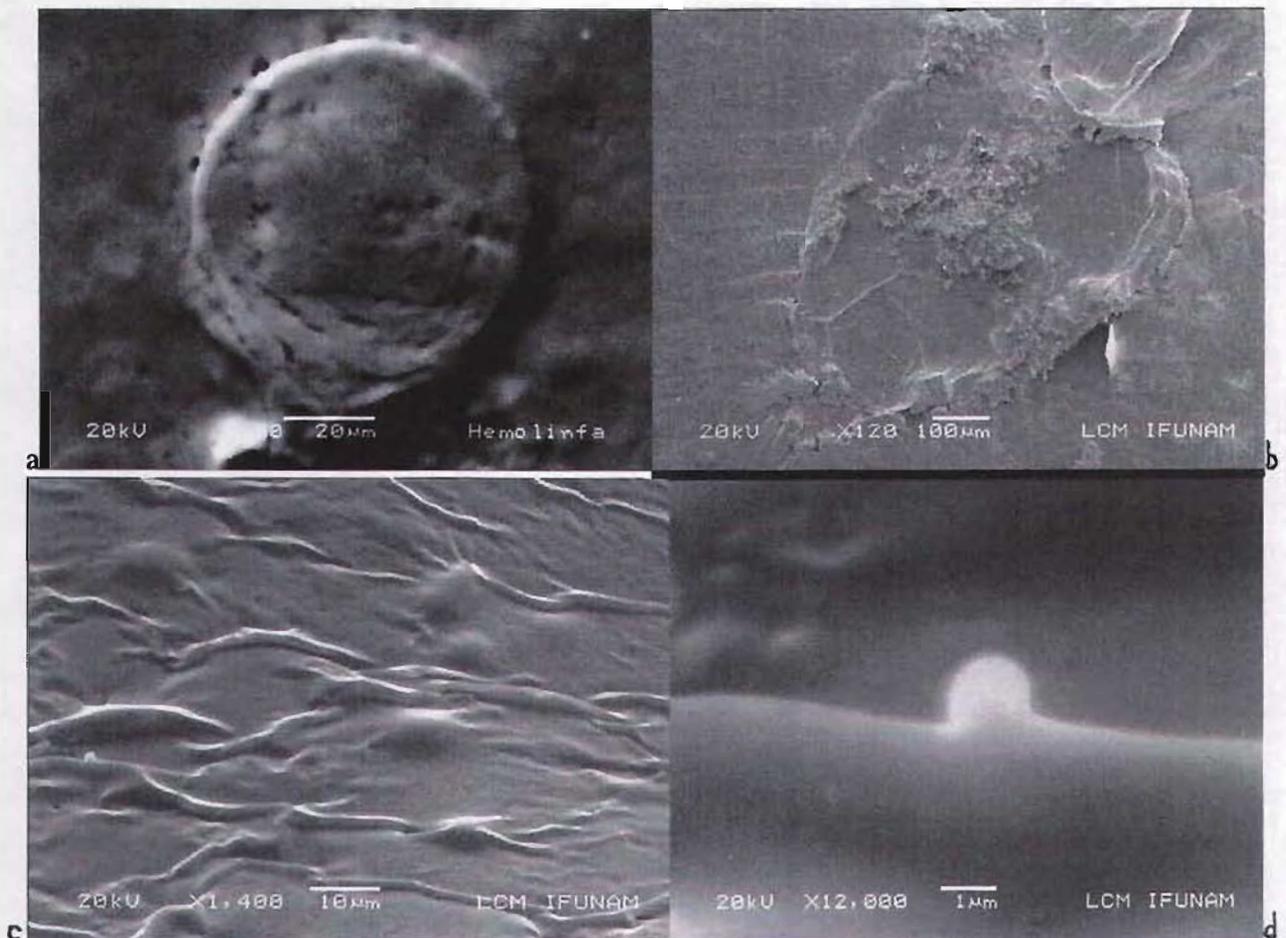


**Figuras 61 a y b. Granulocitos**  
Micrografía óptica y fluorescente  
Muestra de *Dactylopius coccus*  
Aumento: 400 veces



**Figura 62. Granulocitos**  
 Micrografía óptica  
 Muestra de *Dactylopius coccus*  
 Aumento: 1000 veces

Conforme a las imágenes anteriores, en la hemolinfa y en los granulocitos se observa la presencia de pequeños círculos rojos que constituirían un indicio de la presencia del ácido carmínico en tales partes del insecto.



**Figura 63 a, b, c y d. Cuerpo graso (a) y granulocitos (b, c y d)**  
 Micrografía MEB  
 Muestra de *Dactylopius coccus*

De la parte central del cuerpo graso de la ninfa I se obtuvo espectroscopia de dispersión de rayos X.

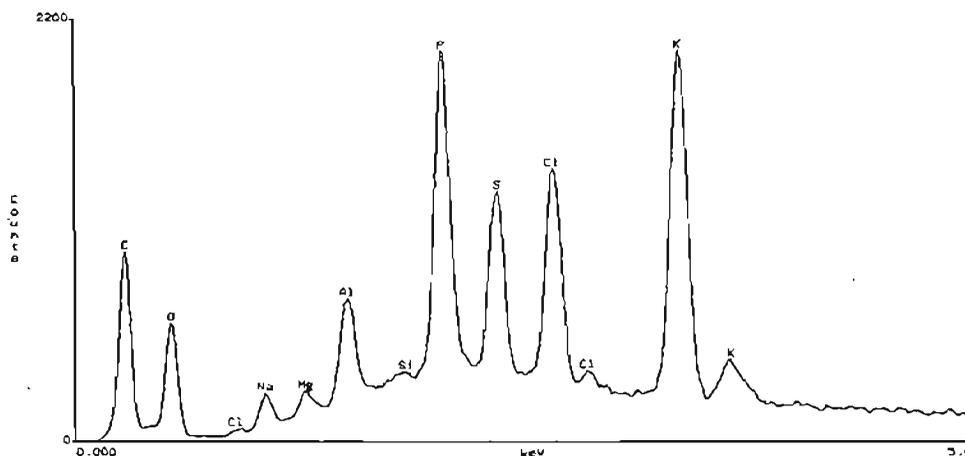


Figura 64. Espectro de dispersión de rayos X cuerpo graso

Tabla 18. Dispersión de rayos x. Cuerpo graso

Element	k-ratio (calc.)	ZAF	Atom %	Element Wt %	Wt % Err. (1-Sigma)	No. of Cations
C -K	0.0845	5,102	58,53	43,10	+/- 0,53	52,980
O -K	0.0363	7,173	26,51	26,01	+/- 0,50	—
Na-K	0.0040	2,494	0,72	1,01	+/- 0,06	0,647
Mg-K	0.0027	1,804	0,32	0,48	+/- 0,04	0,293
Al-K	0.0127	1,512	1,16	1,92	+/- 0,05	1,048
P -K	0.0483	1,236	3,14	5,97	+/- 0,10	2,844
S -K	0.0349	1,208	2,15	4,22	+/- 0,11	1,942
Cl-K	0.0470	1,249	2,70	5,87	+/- 0,12	2,443
K -K	0.0935	1,216	4,74	11,37	+/- 0,15	4,291
Si-K	0.0005	1,309	0,04	0,06	+/- 0,03	0,032
Total			100,00	100,00		66,521

La mayor parte del cuerpo graso está compuesto por carbono y oxígeno y se observa una presencia menor de otros compuestos.

## 8.2 K'AXTI

### 8.2.1 PROCESO DE PURIFICACIÓN DEL COLORANTE

• Selección de la planta. Se realizaron experimentos de extracción con las tres especies de *Cuscuta*, sin embargo, al final se seleccionó la *Cuscuta tinctoria* porque como su nombre lo indica, es la que servía para teñir. Además, los experimentos realizados con esas tres especies,

arrojaron por resultado que es de la *Cuscuta tinctoria* de donde se obtenía un amarillo más intenso y con mayor rendimiento. Al comparar *Cuscuta tinctoria* fresca y seca, se tiene que esta última produjo un mayor rendimiento debido a que la fresca tiene un alto contenido de agua.

Conforme a una visita de campo al Municipio del Oro, Edo. de México, se nos informó por personas que tiñen mediante procedimientos tradicionales, que la forma en que distinguen las cualidades de tinción de los diferentes tipos de *Cuscuta* es a través del sentido del gusto: prueban la planta y si su sabor es amargo, entonces es la más adecuada para teñir. Esto lo pudimos comprobar al detectar que la *Cuscuta tinctoria* tenía un sabor amargo comparado con los otros tipos de plantas.

- Se muele la planta con el objetivo de tener una mayor superficie de contacto con el disolvente, y así favorecer la extracción.

- Elección del disolvente. Como no se reporta ninguna fórmula química del colorante, no se conocía con anticipación qué disolvente podía ser utilizado para la extracción; por tal motivo se emplearon disolventes no polares y polares y se encontró que el etanol era adecuado para extraer el colorante.

- Extracción de grasas. Existen muy pocas grasas en la planta; en este experimento las grasas se evaporaron a presión reducida. Se obtuvo el difractograma de rayos X y se observó que esas grasas presentaron una estructura amorfa; también se les aplicó cromatografía en capa fina y se observaron diversas manchas por lo que no se envió la muestra a resonancia magnética nuclear.

- Extracción del colorante. La Extracción III realizada para *Nocheztlí*, se aplicó de manera similar para la extracción del *K'axti*, en los tres tipos de planta, porque era el método que ofrecía el mayor rendimiento; además, se reprodujeron las mismas condiciones para probar que ese método podría ser extendido en su aplicación para extraer colorantes del México antiguo.

Se observó un mayor rendimiento en la planta *Cuscuta tinctoria* seca, porque en general, la planta está constituida en gran parte por agua.

A los cuatro compuestos obtenidos se les realizó cromatografía en capa fina y se vio que el Amarillo I era el que contenía menos impurezas.

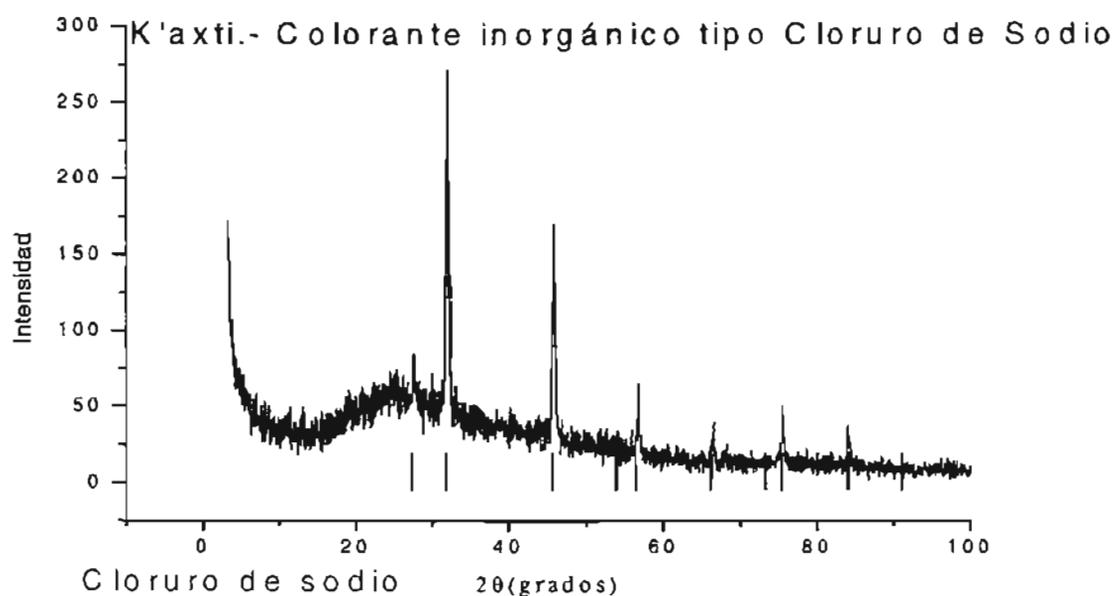
La parte experimental de esta primera fase del experimento se sintetiza en la Figura 22. Como se observaron impurezas se realizó cromatografía en columna y después una extracción líquido-líquido, se obtuvieron los Amarillos II y III.

La segunda fase del experimento se representó esquemáticamente en la Figura 23.

El aceite café oscuro que se obtuvo de la parte orgánica del Amarillo II, se caracterizó por rayos X y se obtuvo un compuesto amorfo.

Los resultados de la caracterización del polvo obtenido de la parte acuosa del Amarillo III, son:

#### ☞ Difracción de rayos X



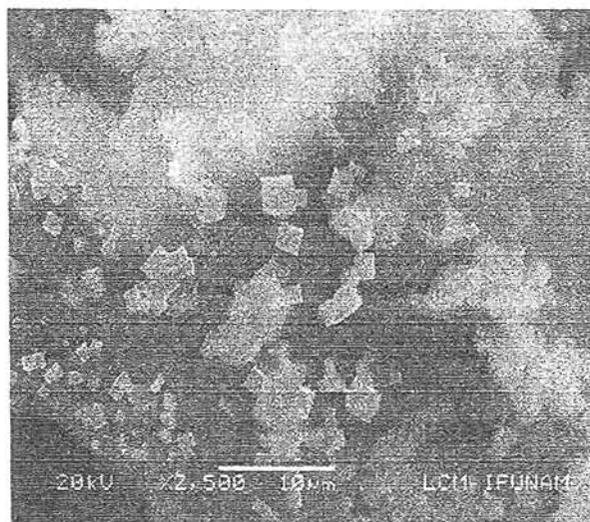
**Figura 65. Difractograma de rayos X colorante inorgánico “Tipo cloruro de sodio”**

La inspección del difractograma (Figura 65) indica que el compuesto es cristalino del tipo cloruro de sodio, aunque coinciden otros compuestos inorgánicos adicionales.

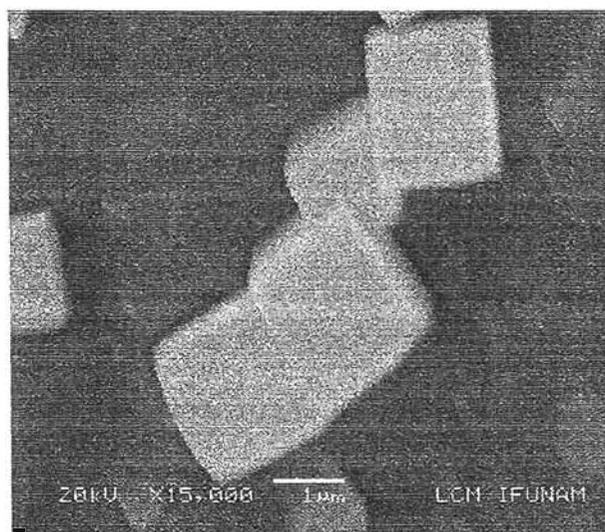
Para verificar si el compuesto era inorgánico o no, se realizó resonancia magnética de protón y resonancia magnética de  $^{13}\text{C}$ Carbono; en los espectros no apareció ninguna banda, es decir, que el

compuesto no contenía hidrógeno, ni carbono, lo que indica que se trata de un compuesto inorgánico.

Se tomaron imágenes del compuesto en el microscopio electrónico de barrido; también se le aplicó espectroscopía de dispersión de Rayos X.



**Figura 66. Amarillo III**  
Micrografía MEB  
Muestra: Colorante inorgánico



**Figura 67. Amarillo III**  
Micrografía MEB  
Muestra: Colorante inorgánico

En las imágenes se observan cristales bien definidos de forma cuadrangular, tipo cloruro de sodio, por tal razón, se realizó espectroscopía de dispersión de rayos X.

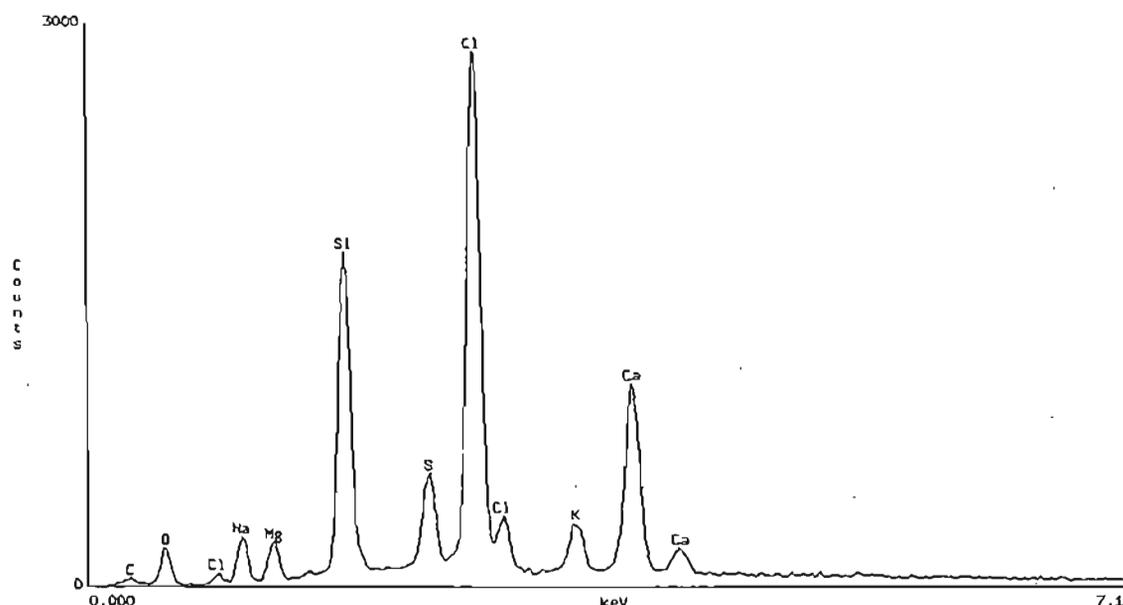


Figura 68. Espectro de dispersión de rayos X Amarillo III

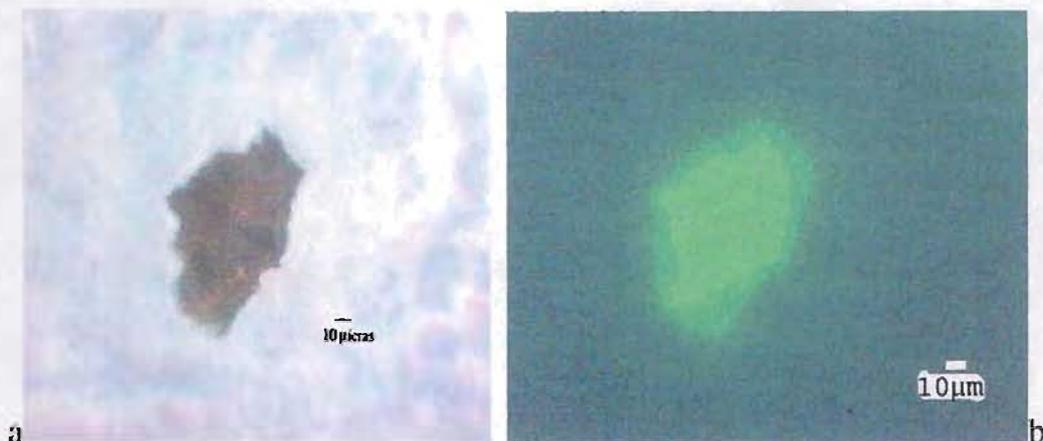
Tabla 19. Espectro de dispersión de rayos X Amarillo III

Element	k-ratio (calc.)	ZAF	Atom %	Element Wt %	Wt % Err. (1-Sigma)	No. of Cations
C -K	0,0090	10,793	19,39	9,73	+/- 0,75	14,941
O -K	0,0280	7,442	31,15	20,82	+/- 0,61	—
Na-K	0,0113	2,394	2,81	2,70	+/- 0,10	2,166
Mg-K	0,0103	1,779	1,81	1,84	+/- 0,08	1,392
Si-K	0,0967	1,253	10,33	12,12	+/- 0,11	7,956
S -K	0,0385	1,176	3,38	4,52	+/- 0,14	2,601
Cl-K	0,2363	1,221	19,48	28,84	+/- 0,27	15,004
K -K	0,0290	1,276	2,26	3,70	+/- 0,19	1,743
Ca-K	0,1287	1,223	9,40	15,73	+/- 0,27	7,238
Total			100,00	100,00		53,042

La muestra presentó 19.48% de cloro, pero muy poco sodio (2.81%). Los compuestos que aparecen en mayor proporción son óxido de silicio, cloruro de calcio o silicato de calcio en proporción  $\text{Ca}_{9,4}\text{Si}_{10,33}\text{O}_{31,15}$  es decir  $\text{CaSiO}_3$ .

Esto podría constituir una nueva línea de investigación para determinar con precisión el compuesto inorgánico del *K'acti*.

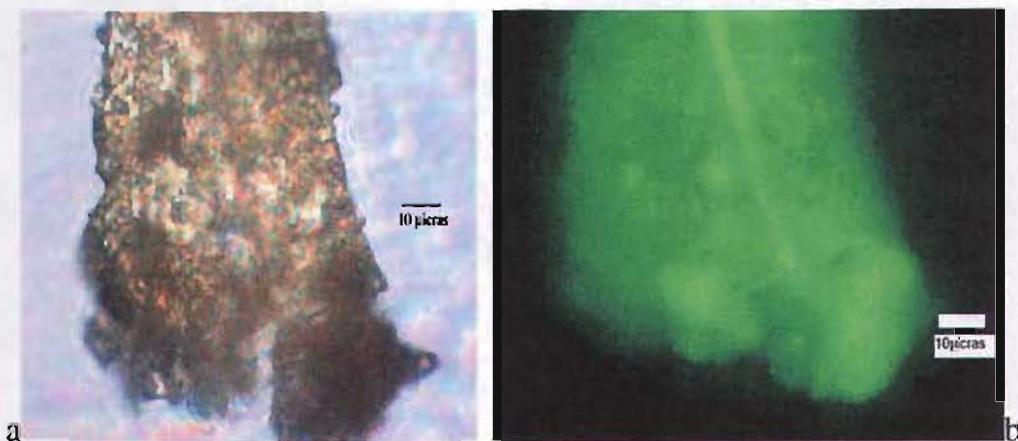
Para verificar si los cristales observados en el microscopio electrónico de barrido eran amarillos, se utilizó el microscopio de fluorescencia, el polvo fluoresce con el filtro B<sub>2</sub> en un intervalo de 450-495 nm.



**Figura 69 a y b. Amarillo III**

Micrografía óptica  
Muestra del colorante inorgánico  
Aumento: 400 veces

Micrografía fluorescente  
Muestra del colorante inorgánico  
Aumento: 400 veces



**Figura 70 a y b. Amarillo III**

Micrografía óptica  
Muestra del colorante inorgánico  
Aumento: 1000 veces

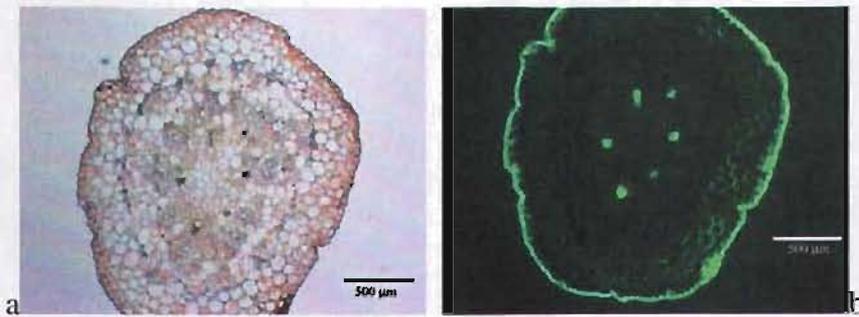
Micrografía fluorescente  
Muestra del colorante inorgánico  
Aumento: 1000 veces

En las imágenes se ven regiones amarillas y regiones negras; en éstas últimas se encuentra concentrado el colorante y por lo tanto fluoresce más. Las regiones blancas son traspasadas por la luz del microscopio. En suma, el polvo en su mayoría es de color amarillo y fluoresce.

## 8.2.2.- EL COLORANTE DENTRO DE LA PLANTA

Se hicieron cortes a la planta de forma similar que a la cochinilla y se utilizó la misma técnica de fijación.

Las imágenes de cortes de un grosor de 50 micras, se presentan a continuación:



**Figura 71 a y b. Corte de la planta**

Micrografía óptica

Muestra de *Cuscuta tinctoria*

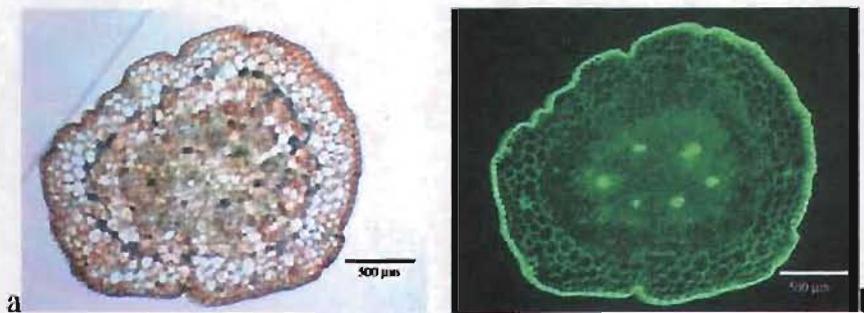
Aumento: 500 veces

Micrografía fluorescente

Muestra de *Cuscuta tinctoria*

Aumento: 500 veces

Las imágenes con cortes de un grosor de 100 micras, son las siguientes:



**Figura 72 a y b. Corte de la planta**

Micrografía óptica

Muestra de *Cuscuta tinctoria*

Aumento: 500 veces

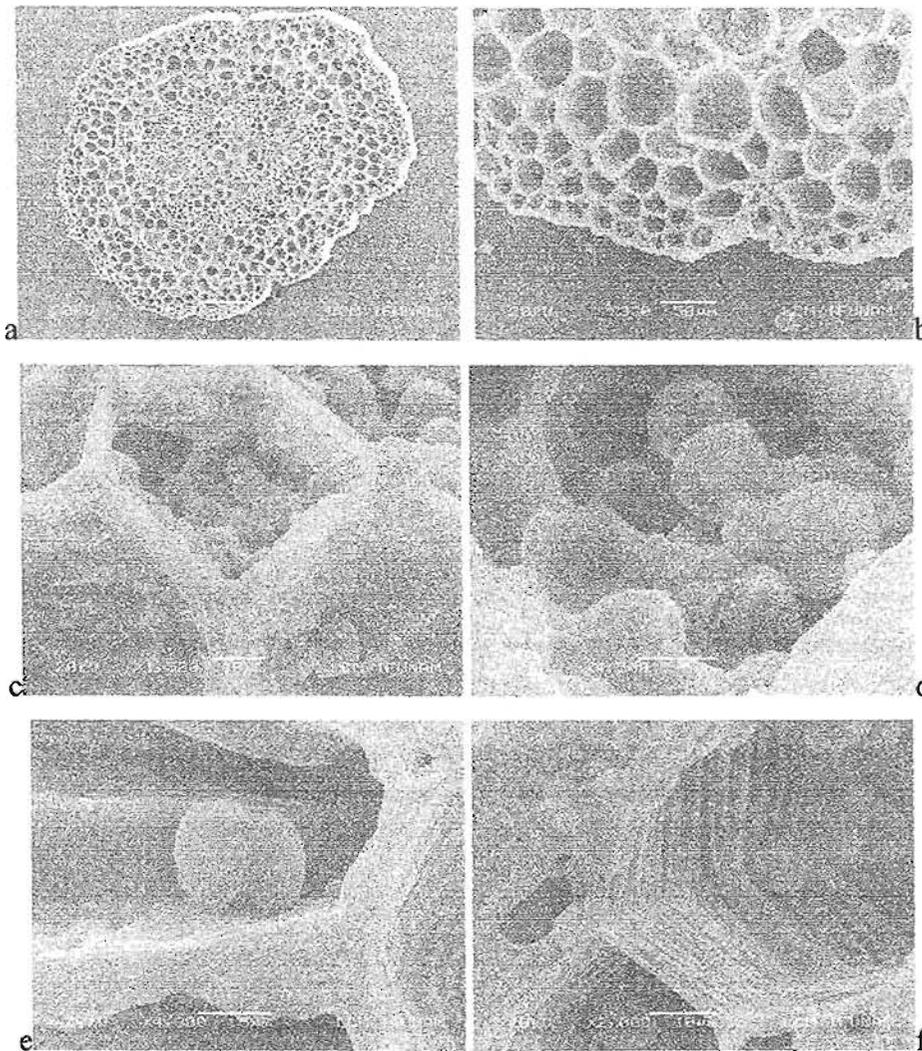
Micrografía fluorescente

Muestra de *Cuscuta tinctoria*

Aumento: 500 veces

La inspección de las imágenes revela que el corte transversal de la planta tomado como muestra fluoresce en la orilla y en seis puntos al centro. Esto se interpreta de la siguiente manera: en la epidermis de la planta formada por células pequeñas, se encuentra uno de los depósitos del colorante.

Los seis puntos que aparecen en el centro son seis haces vasculares colaterales por donde pasan los nutrientes y el agua, equivale a la vena de la planta, ya que es un canal de alimentación y transporte de compuesto; por tanto, el colorante se transporta por tales haces vasculares al resto de la planta<sup>16</sup>.



**Figura 73. a, b, c, d, e y f. Corte de la planta a 50 micras**  
 Micrografías MEB  
 Muestra de *Cuscuta tinctoria*

Se tomaron imágenes del corte a una escala de 50 micras. Un acercamiento a los extremos del corte (Figura 69, b, c y f) permite observar que en el interior de los orificios se localizan “granulitos esferoidales”; un acercamiento a los orificios (Figura 69, d y e) permite inducir que ahí se encuentra el colorante acompañado de posibles nutrientes.

## CAPÍTULO IX.- CONCLUSIONES

Los objetivos propuestos se cumplieron en su totalidad; el principal fue el rescate, con base en los métodos de la química moderna, de los colorantes naturales del México antiguo *Nocheztl* y *K'axti*.

Con base en los experimentos realizados y en los resultados se concluye que:

- ❖ Se obtuvo un método para extraer *Nocheztl*, el cual se aplicó exitosamente en *K'axti*.
- ❖ Este método puede ser aplicado para la recuperación de diferentes colorantes naturales, en particular del México antiguo como la *xochipali* y *achiote*.

La Extracción III continua tipo Soxhlet fue la más eficiente, en cuanto a que se obtuvo un ahorro de tiempo, de disolvente y un mayor rendimiento. Cabe recordar que en este proceso se pone un algodón en la parte de inferior de la cámara de extracción, con el fin de que sólo pase el disolvente, después se coloca la materia prima sin grasa, insecto o planta, sin el uso de papel filtro, posteriormente, en el matraz de bola se coloca el disolvente y se somete la materia prima al proceso de extracción.

- ❖ Se purificó ácido carmínico del insecto *Dactylopius coccus* (cochinilla) con un rendimiento de 2.88% en peso con base en los 10 g iniciales; y, se detallaron los compuestos susceptibles de uso industrial. La caracterización de los compuestos se realizó mediante las diferentes pruebas espectroscópicas lo que permitió verificar la pureza del ácido carmínico.
- ❖ El ácido carmínico no es el único colorante dentro de la cochinilla; también se encontró un colorante violeta (derivado rico en fuschina), que en esta investigación registró rendimiento de 9.87% en peso, con base en los 10 g iniciales.

- ❖ Con respecto a la parte biológica, se ofrecen indicios sólidos de que el ácido carmínico se encuentra en el insecto dentro de la hemolinfa, en específico en los granulocitos y en cuerpos grasos.
  
- ❖ Se purificó también el colorante *K'axti*; se obtuvo un polvo amarillo. Mediante la caracterización de los colorantes extraídos se pudo establecer que no se trata de un compuesto orgánico, sino de un compuesto inorgánico. El rendimiento obtenido fue de 2.38%.
  
- ❖ Gracias a la fluorescencia del colorante, se pudo determinar que el colorante se encuentra ubicado principalmente en la epidermis de la planta *Cuscuta tinctoria* y en los haces vasculares (seis puntos en centro del corte muestral).

## BIBLIOGRAFÍA

1. F. B. Sahagún, "Historia general de las cosas de Nueva España", Porrúa, México, (1999).
2. F. de Ajofrín, "Diario del viaje que hizo a la América en el siglo XVIII el P. Fray Francisco de Ajofrin", Volumen II, *Instituto Cultural Hispano Mexicano*, México, (1964).
3. F. Hernández, "Historia natural de Nueva España" Volumen II y III *Universidad Nacional de México*, México, (1959).
4. C. B de Díaz, "Historia verdadera de la conquista de la Nueva España", Porrúa, México, (1955).
5. B. Dahlgren, "La grana cochinilla", *UNAM*, México, (1990).
6. J. A. R. Alzate, "Memoria sobre la naturaleza, cultivo y beneficio de la grana" *Archivo General de la Nación*, México, (1777).
7. M. Martínez, "Plantas mexicanas" *Fondo de Cultura Económica*, México, (1994).
8. L. Piña, "La grana o cochinilla del nopal" *Monografías LANFI*, México, (1977).
9. C. C. Llanderal y R. H. Nieto, "Cría de la grana cochinilla del nopal para la producción de su pigmento" *Colegio de Postgraduados*, México, (1999).
10. L. Portillo y A.L. Viguera, "Cría de grana cochinilla" *Universidad de Guadalajara*, México, (2003).
11. G L. Arreola, "Anatomía reproductiva, histoquímica y fotoquímica de algunas especies de *Cuscuta L.*(Cuscutacea), del Valle de México" Tesis Doctoral, *UNAM*, México (2004).
12. Harris, "Análisis Químico Cuantitativo", *Reverte*, Barcelona, (1999).
13. A. G Lloyd, *Food Chemistry*. **5** (1980) 91.
14. P. Schmitt, H Günther, G Hägele, R. Stilke, *Organic Magnetic Resonance*, **22** (1984) 446.
15. F. de la Cruz, F. García, A. Rojas, S. Hernandez, H. Lanz, *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, **54** (2003) 37.
16. S. N. Melona, L.S. Valentine, H. Putschler, *Histochemie*, **27** (1971) 87.
17. S. B. Bhata, K. Venkataraman, *Indian J. Chem.* **3** (1965) 92.
18. T. Ishida, M. Inoue, K. Baba, M. Kozawa, K. Inoue, H. Inouye, *Acta Cryst.* **C43** (1987) 1541.
19. M. Nakazaki, H. Chikamatsu, M. Nishino, H. Murakami, *J. Org Chem.* **46** (1981) 1151.
20. B. Guzel, A. Akgerman, *J. Of Supercritical Fluids*, **18** (2000) 247.

21. T. Bechtold, A. Turcanu, E. Gangleberger, S. Geissler, *J. of Cleaner Production*, **11** (2003) 499.
22. D. Fabbri, G Chiavari, H. Lingh, *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, **56** (2000) 167.
23. T. Eisner, S. Nowicki, *Science*, **208** (1980) 1039.
24. M. A. Ackacha, K. Potec-Pawlak, M. Jarosz, *J. Sep. Sci*, **26** (2003) 1028.
25. M.S. Maier, S.D. Parera, A. M. Seldes, *International Journal of Mass Spectrometry* **232** (2004) 225.