



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

ESTUDIO ELECTROQUÍMICO DE LA PURPURINA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO

PRESENTA:

ULRICH BRIONES GUERASH SILVA



MÉXICO, D.F.

AÑO 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor:** Eugenio Octavio Reyes Salas
VOCAL: **Profesor:** Ricardo Flores Hernández
SECRETARIO: **Profesor:** Silvia Citlalli Gama González
1er. SUPLENTE: **Profesor:** Carolina Flores Ávila
2° SUPLENTE: **Profesor:** Selma Sonia Sosa Sevilla

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Departamento de Química Analítica DEPg.
Laboratorio 114. Sótano del edificio B.
Universidad Nacional Autónoma de México.

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Eugenio Octavio Reyes Salas

SUPERVISOR TÉCNICO:

Q. Selma Sonia Sosa Sevilla

SUSTENTANTE:

Ulrich Briones Guerash Silva

AGRADECIMIENTOS

A la UNAM y a todo su personal, por la formación que me han brindado.

A toda mi familia, en especial a mi madre y a mi hermana Bertha, por todo el amor y cariño que me han dado sin importar las distancias; ustedes son mi inspiración para seguir adelante.

Al Dr. Octavio Reyes Salas. Gracias por todo tu apoyo, por compartir conmigo tus conocimientos, pero principalmente gracias porque a través de tu amistad he logrado crecer y madurar como persona.

A las profesoras Laura Bello y Luz María Pérez Carballido, gracias por la confianza que tuvieron en mí, sin ustedes este sueño no hubiera sido posible.

A la Dra. Antonia Dosal y a la profesora Rosario Covarrubias, gracias por su paciencia y por darme la oportunidad de aprender un poco de ustedes.

A todos los miembros del laboratorio 114, Demian, Edgar, Hiram, Alí, Sarita y Selma, por su amistad y por tantos agradables momentos que pasamos juntos.

A los extranjeros, Aranys, Jorge y Diego, porque su estancia en México significó mucho para mí, gracias por su amistad, por cambiar la forma en que veo el mundo y por toda la química que aprendimos juntos. A los de provincia, Uzi, Luis Ángel, Darío y Ricardo, también gracias por su amistad y por hacer más divertida mi estancia en esta ciudad.

A Demian, Gaby, Hiram, Abraham, Cristóbal, Alí y Octavio, por tantas y tantas experiencias juntos, porque el día a día al lado de ustedes ha sido la experiencia más importante de mi vida.

A Cecilia, por tu cariño, por pensar en mí y por todas las aventuras que hemos vivido juntos.

A todos los antes mencionados, porque todo lo bueno en mi vida, incluso los éxitos, proviene de o ha sido gracias a ustedes.

ÍNDICE

CONTENIDO	PÁGINA
Lista de abreviaturas	v
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	
2.1 Colorantes	2
2.2 Alizarina	4
2.3 Purpurina	5
2.4 Rose Madder	6
2.5 Fundamentos de Electroquímica	13
2.5.1 Teoría de la electrólisis	13
2.5.2 La polarografía	15
2.5.3 El polarograma	17
2.5.4 Transporte de materia al electrodo	19
2.5.5 Aplicaciones de la polarografía en análisis cualitativo y cuantitativo	20
2.5.6 Estudio matemático de la ondas polarográficas	21
2.5.7 Polarografía diferencial de impulsos	22

3. OBJETIVOS	
3.1 Objetivo general	25
3.2 Objetivos particulares	25
4. METODOLOGÍA	
4.1 Reactivos	26
4.2 Equipo	26
4.3 Muestra analizada	26
4.4 Pruebas de solubilidad	27
4.5 Estudio electroquímico fundamental de purpurina y alizarina	27
4.6 Valoraciones complejométricas	28
4.7 Cuantificación en un extracto de origen natural	29
5. RESULTADOS Y ANÁLISIS	
5.1 Pruebas de solubilidad	30
5.2 Dominio de electroactividad	31
5.3 Electroquímica fundamental de la purpurina	32
5.3.1 Polarografía clásica (PC)	32
5.3.2 Polarografía diferencial de impulsos (PDI)	35
5.3.3 Voltamperometría cíclica	38

5.4 Electroquímica fundamental de la alizarina	39
5.4.1 Polarografía clásica (PC)	39
5.4.2 Polarografía diferencial de impulsos (PDI)	43
5.4.3 Voltamperometría cíclica	46
5.5 Valoraciones complejométricas	48
5.5.1 Complejos de purpurina con Ca(II)	48
5.5.2 Complejos de purpurina con Mg(II)	51
5.5.3 Complejos de purpurina con Al(III)	54
5.5.4 Complejos de alizarina con Al(III)	55
5.6 Cuantificación	62
5.6.1 Mezclas de reactivos	62
5.6.2 Análisis de un extracto de <i>Rubia cordifolia</i>	63
6. CONCLUSIONES	66
7. PERSPECTIVAS	68
8. BIBLIOGRAFÍA	69
9. ANEXOS	
9.1 Estudio logarítmico de las curvas i/E para la obtención del potencial de media onda ($E_{1/2}$)	72
9.2 Gráficos de Tafel	75

9.3 Determinación del límite de detección y linealidad del método	78
9.4 Determinación de las constantes de formación de complejos	81
9.5 Construcción de los diagramas de abundancia relativa de especies	86
9.6 Cuantificación de purpurina y alizarina en un extracto de <i>Rubia Cordifolia</i>	90

LISTA DE ABREVIATURAS

Alzrn	Alizarina
DMSO	Dimetilsulfóxido
$E_{1/2}$	Potencial de media onda
E_p	Potencial de pico
HPLC	Cromatografía de Líquidos de Alta Eficiencia
i_d	Corriente límite de difusión convectiva
i_p	Corriente de pico
PC	Polarografía clásica
PDI	Polarografía diferencial de impulsos
Purp	Purpurina
R.A.	Reactivo Analítico
UV	Ultravioleta
VC	Voltamperometría cíclica

1. INTRODUCCIÓN

La industria de los colorantes naturales ha retomado gran importancia en los últimos años, pues se ha encontrado que muchos colorantes sintéticos son tóxicos, principalmente cuando se utilizan en alimentos. Ejemplos de ello son la tartrazina y el rojo allura, conocidos como amarillo 5 y rojo 40 respectivamente, ambos compuestos azoicos. Los colorantes naturales presentan la ventaja de que en su gran mayoría son inocuos y por lo tanto no presentan efectos adversos sobre la salud. Sin embargo, su obtención, manejo y control de calidad representa diversas dificultades. La obtención, generalmente a partir de una extracción acuosa o alcohólica, se ve limitada por bajos rendimientos. Las dificultades en el manejo de los colorantes durante su aplicación vienen dadas por fenómenos de oxidación, hidrólisis, isomerización u otras reacciones en disolución, que tienen como consecuencia la falta de reproducibilidad del color deseado. El control de calidad está, en la mayoría de los casos, limitado a métodos cromatográficos, cuya principal desventaja es su alto costo y tiempo de análisis requerido. Una de las alternativas tradicionales para estabilizar los colorantes ante los factores ya mencionados y además dar mayor gama a las tonalidades, al mismo tiempo que favorece su fijación cuando se aplican sobre textiles, es la formación de complejos con diferentes cationes metálicos, siendo los más comunes Ca(II), Al(III), Mg(II), Fe(III) y Cu(II).

La purpurina o 1,2,4-trihidroxiantraquinona se encuentra en la raíz de la *Rubia tinctorum* junto con la alizarina (1,2-dihidroxiantraquinona) y ambos compuestos, de un color rojo intenso, se utilizan desde el siglo XVI para teñir prendas de vestir. En este trabajo se presenta como alternativa al control de calidad de la purpurina un método polarográfico, mismo que se aprovecha para estudiar los equilibrios de complejación de este colorante con Ca(II), Al(III) y Mg(II). Para tal estudio se utilizó el método de las relaciones molares aplicado a polarografía.

2. ANTECEDENTES

2.1 Colorantes

Desde tiempos remotos, el color ha formado parte esencial en la vida del hombre, prueba de ello es la enorme aplicación que la humanidad le ha dado a los colorantes, es decir, a las sustancias capaces de dotar de color a las fibras vegetales, animales o a cualquier otro material. Las aplicaciones más importantes de los colorantes en la antigüedad fueron en los alimentos, los textiles y los cosméticos. Por ejemplo, arqueólogos han encontrado que desde los años 5000 A.C. las mujeres egipcias usaban sales de cobre para pintar sombras en sus ojos, también se sabe que en ocasiones los romanos teñían el vino de forma artificial, la cúrcuma, el azafrán y la paprika colorean los alimentos desde hace siglos, al igual que el rojo de cochinilla y el índigo extraído del añil lo han hecho sobre fibras como el algodón, la lana y la seda. ^[1]



Figura 1. Teñido de lana, 1842.

En la actualidad los colorantes siguen ocupando un lugar muy importante en la vida del ser humano, a tal grado que existe toda una industria dedicada por completo a la creación o mejora de nuevos colorantes, así como al desarrollo de tecnología que permita facilitar su obtención, aplicación y cuantificación.

Los colorantes se pueden clasificar según diferentes criterios, que van desde su origen, su estructura química, la forma de aplicación, etc. La clasificación según el origen de los colorantes divide a éstos en dos grandes grupos: naturales y sintéticos. Estos últimos han sido de gran importancia desde mediados del siglo XIX, cuando Perkin obtuvo el primer colorante sintético: la malva o anilina morada, pues antes de ello todos los colorantes utilizados eran de origen natural y se obtenían de animales, minerales y plantas.^[2] La relativa facilidad en el proceso de obtención de grandes cantidades de colorantes sintéticos, aunado a la aparente mayor estabilidad física y química respecto a sus análogos naturales, dio origen a que tuvieran un gran auge desde su invención, logrando que la demanda y uso de los colorantes naturales se extinguiera casi por completo. No obstante, en los últimos años se han identificado propiedades tóxicas en diversos colorantes de tipo sintético, lo que ha causado la prohibición del uso de algunos de ellos, principalmente en alimentos, por parte de la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA por sus siglas en inglés). Esta situación, sumada a la preocupación por la contaminación debida a los efluentes de la síntesis de colorantes, ha devuelto la atención de la sociedad hacia el uso y aprovechamiento de los colorantes naturales, pues en su mayoría son inocuos para el ser humano, dando origen a diversos estudios científicos que pretenden encontrar formas más eficientes para su aprovechamiento y control.^[3]

Cabe mencionar que los colorantes naturales se pueden clasificar en diferentes grupos o familias, tomando como criterio base la estructura química del grupo cromóforo presente en la molécula. De acuerdo a lo anterior tenemos entre los más importantes a los colorantes de tipo antraquinónico, indigoide, flavonoides, curcuminoides, etc. (Figura 2).^[4]

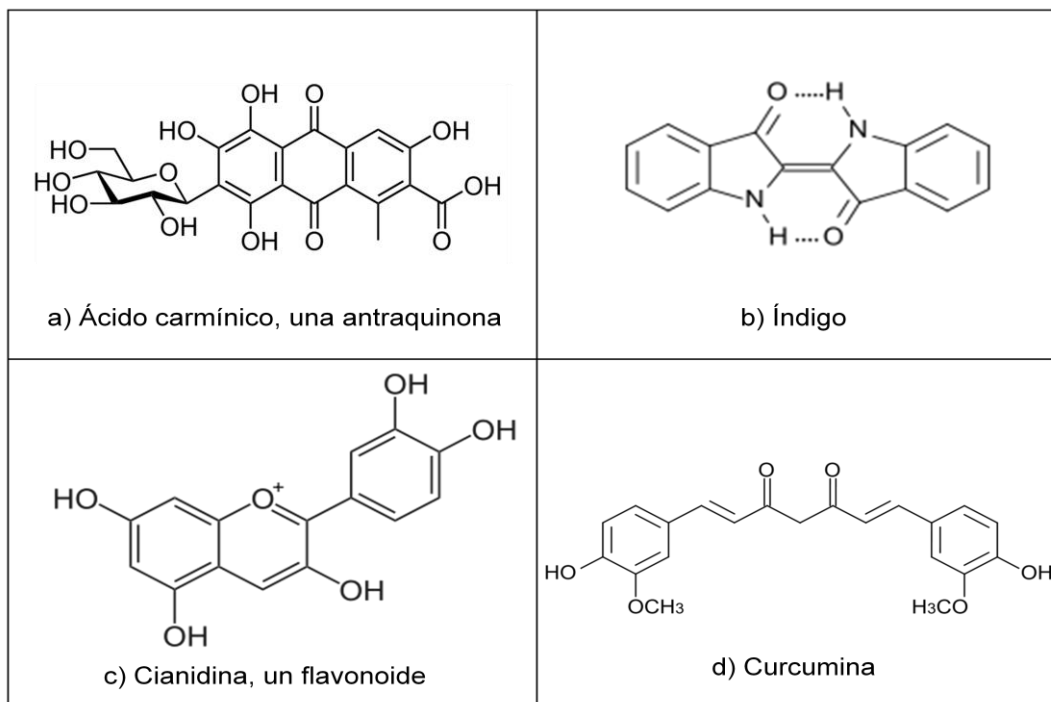


Figura 2. Estructura química de algunos colorantes naturales comunes.

2.2 Alizarina^[5]

La alizarina, también llamada 1,2-dihidroxiantraquinona, de fórmula $C_{14}H_{18}O_4$ (PM=240.21 g mol⁻¹), es un compuesto antraquinónico que se presenta en forma de polvo rojo parduzco, poco soluble en agua y con punto de fusión de 279-283 °C. Es el componente principal del pigmento conocido como "Rose madder" o carmín de alizarina (Figura 3).

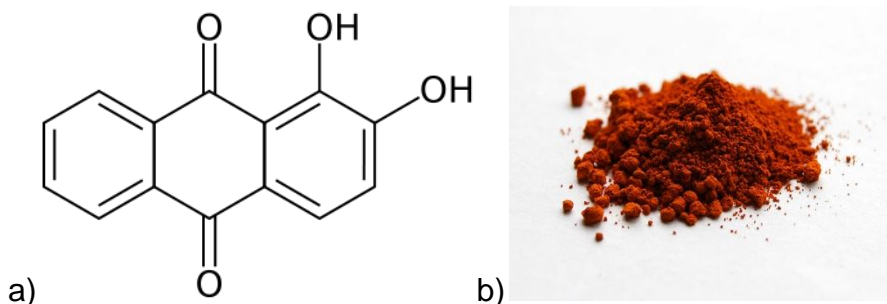


Figura 3. a) Estructura química de la alizarina y b) imagen de su aspecto físico.

Descubierto en 1826 por el químico francés Pierre Robiquet, siglos atrás ya desempeñaba un rol destacado como tinte, siendo ampliamente utilizado como tinte para el cabello y la ropa; durante muchos años fue el colorante utilizado para teñir el uniforme de las "Casacas rojas" del ejército inglés. En 1869 se convirtió en el primer pigmento natural que fue duplicado de forma sintética. En la actualidad también tiene aplicación como indicador de pH y en el campo de la bioquímica, donde se utiliza para realizar ensayos bioquímicos en la determinación colorimétrica de depósitos de calcio en células.

2.3 Purpurina^[6]

La purpurina, también llamada 1,2,4-trihidroxiantraquinona, de fórmula $C_{14}H_8O_5$ (PM= 256.21 g mol⁻¹) es un derivado antraquinónico que se presenta en forma de sólido cristalino de color rojo y punto de fusión de 253-256 °C. Al disolverse en etanol permanece su color rojo y se torna amarillo al disolverse en soluciones alcalinas en ebullición (Figura 4).

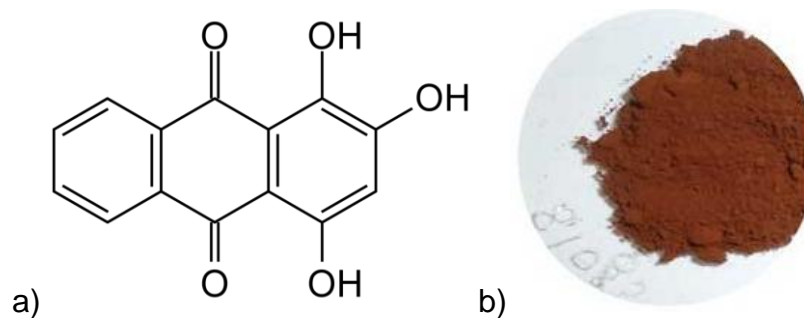


Figura 4. a) Estructura química de la purpurina y b) imagen de su aspecto físico.

Es el componente secundario del clásico pigmento de "Rose madder", es decir, se encuentra en menor cantidad que la alizarina. Es un colorante ampliamente utilizado en algodón y forma complejos con varios cationes metálicos; sin embargo, se desvanece más rápido que la alizarina con la exposición al sol.

2.4 "Rose Madder"

Rose Madder es el nombre comercial con el que se ha designado a la pintura elaborada con "Laca de Rubia", pigmento obtenido a partir de la extracción de las plantas de la familia *Rubiaceae*, principalmente la *Rubia tinctorum* y la *Rubia cordifolia* (Figura 5).

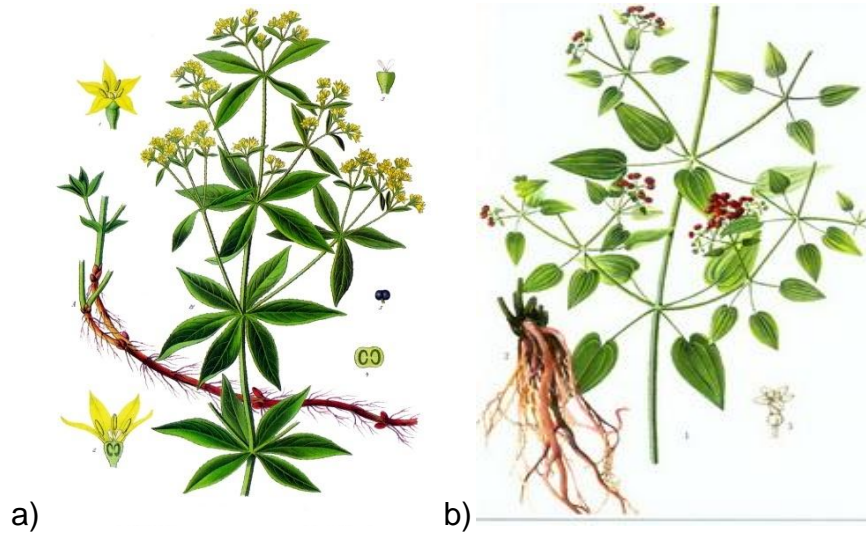


Figura 5. Imagen de a) *Rubia tinctorum* y b) *Rubia cordifolia*.

La rubia ha sido cultivada como colorante desde la antigüedad en Asia Central y Egipto, donde se explota desde el 1500 A.C. Su uso es mencionado en el Talmud así como en los escritos de Plinio el viejo y otras figuras literarias, refiriéndose a él como "rubio". Incluso se han hallado pinturas de color rosa en una tumba egipcia del periodo greco-latino hechas con Laca de Rubia diluida en yeso. La Rubia fue introducida y cultivada en España por los moros.



Figura 6. Imagen del pigmento de "Rose madder".

La producción del pigmento de Laca de rubia parece haber sido inventado por los antiguos egipcios, quienes desarrollaron diferentes técnicas y recetas. Según ellos el color ideal se obtenía de plantas de entre 18 y 28 meses de edad que hubieran crecido en suelo calcáreo, sin embargo, este pigmento era considerado como débil, pues se desvanecía con cierta facilidad, hasta 1804 cuando el tintorero inglés George Field mejoró la técnica de producción de la laca a partir de Rubia al añadir un tratamiento posterior con alúmina y álcali. El pigmento resultante poseía un color menos fugaz, es decir más resistente, que se pudo utilizar más eficazmente, por ejemplo, mezclándose en pinturas. Durante los años siguientes se encontró que otras sales metálicas, incluyendo aquellas que contienen hierro, estaño y cromo, pueden ser utilizadas en lugar de la alúmina para obtener pigmentos a base de Rubia con otros colores.^[7]

En 1827, los químicos franceses Jean-Pierre Robiquet y Colin comenzaron la producción de Garancina, un concentrado de la Rubia natural. Fue entonces cuando encontraron que la laca de Rubia contenía dos especies colorantes, la alizarina y la purpurina. La purpurina se encuentra presente en la forma natural de la Rubia y otorga un tono rojo-anaranjado más cálido que aquel que se obtiene sólo con la alizarina. La purpurina emite un color amarillo bajo la luz UV, mientras que la alizarina emite un color ligeramente violeta. La alizarina se descubrió primero que la purpurina, al calentar las raíces de la rubia con ácido y posteriormente adicionar potasa, formándose brillantes agujas rojas a partir de un

vapor amarillo. El concentrado de alizarina constituye aproximadamente sólo entre el 1 y 3% de la raíz.

El pigmento natural de "rose madder" abasteció a la mitad del mundo con su color rojo hasta 1868, cuando el desarrollo de la química durante el siglo XIX permitió descubrir que la alizarina posee una base de antraquinona y aquella se convirtió en el primer colorante natural en ser sintetizado. Sin embargo, el procedimiento no era factible de realizarse a gran escala, pues requería de sustancias costosas y además volátiles, especialmente Bromo (Br_2). En 1869, William Perkin, el inventor de la malva, registró una patente para un nuevo proceso de producción de alizarina sin Bromo, mientras que Graebe, Liebermann y Heinrich Caro registraron otra patente para un proceso similar solamente un día antes que Perkin (figura 7).^[8]

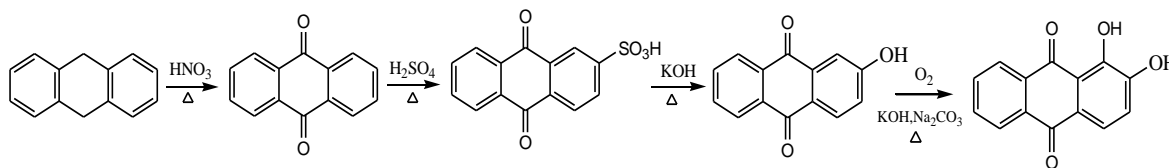


Figura 7. Ruta de síntesis desarrollada por Liebermann, Graebe y Heinrich para la producción de alizarina en ausencia de Br_2 .^[9]

Al final ambas patentes fueron concedidas, pues la de Perkin fue sellada antes, de tal forma que el mercado se dividió en dos: Perkin le vendía al mercado inglés y los científicos alemanes le vendían a los Estados Unidos y al resto de Europa.

Ya que la alizarina sintética podía ser producida por una fracción del costo del extracto natural de Rubia, este último fue rápidamente reemplazado. No obstante, también el uso de alizarina fue después sustituido por los pigmentos de quinacridona (Figura 8), que son más resistentes a la luz y que fueron originalmente desarrollados en DuPont en 1958.

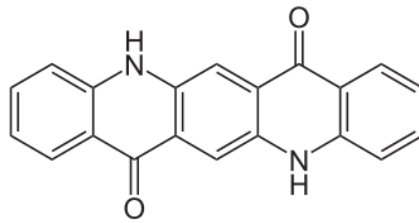


Figura 8. Estructura química de la quinacridona.

El extracto o laca de Rubia aún se obtiene de forma tradicional, principalmente para su uso con fines artesanales.



Figura 9. Imagen de "La joven de la perla" pintada en 1667 por Johannes Vermeer, en ella se aprecian los labios de la joven pintados con pigmento de "rose madder".

Gran parte de los colorantes naturales se obtienen aún hoy en día de forma artesanal. Es decir que para ello se realizan extracciones con mezclas de agua/etanol, casi siempre a ebullición, en presencia de las raíces u hojas de las plantas, seguido de un proceso de mordentado, que no es más que la adición de sales metálicas ya sea directamente en la disolución de colorante o sobre la fibra o material a teñir. Al final se realiza un baño de la pieza a teñir en la disolución del colorante.

El proceso arriba descrito presenta algunas desventajas como:

- Bajos rendimientos de extracción.
- Obtención de mezclas de colorantes.
- Falta de reproducibilidad en los colores después de su aplicación.

De hecho, la falta de reproducibilidad en los colores se debe comúnmente a que cada cosecha de la planta en cuestión posee un contenido distinto de los compuestos colorantes, de ahí que al realizar el mordentado no se formen siempre los mismos complejos en la misma proporción y por lo tanto se obtengan diferentes tonalidades al momento de la aplicación. Estas dificultades en el manejo de los colorantes, tanto en la industria textil como en la de los alimentos, ha impedido que resurja aún con mayor éxito el aprovechamiento de este tipo de colorantes, a pesar de sus ya conocidas ventajas sobre los colorantes sintéticos.^[10,11]

Una alternativa que se ha planteado para resolver este problema es la mejora en el control de calidad de los colorantes naturales, lo que implica el desarrollo de métodos analíticos que permitan identificar y cuantificar este tipo de compuestos en las complejas matrices en que se encuentran, o sea, los extractos a partir de los que se obtienen. En sus inicios, el estudio analítico de los colorantes se apoyó en gran parte en el empleo de métodos ópticos, aprovechando la evidente propiedad de absorción de la radiación en el visible de este tipo de compuestos. No obstante, estos métodos, tales como la espectroscopía UV/visible o la colorimetría, carecen de la especificidad necesaria para resolver mezclas de colorantes, menos aún cuando se trata de compuestos que pertenecen a una misma familia y poseen estructuras químicas muy parecidas, lo que comúnmente se traduce en máximos de absorción muy cercanos o incluso traslapados. Como ejemplo, en la siguiente figura se muestran los espectros de absorción de alizarina, purpurina y un extracto de rubia en acetonitrilo. En la gráfica de la

Figura 10 se observa que no es sencillo resolver la mezcla de colorantes en el extracto de rubia.

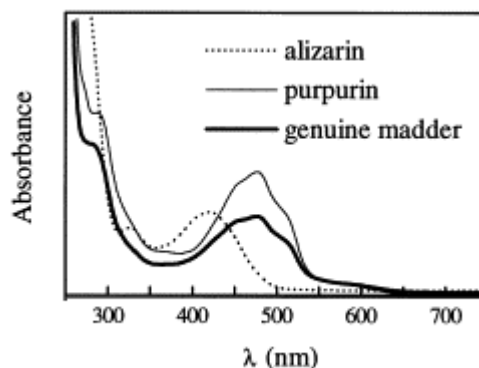


Figura 10. Espectro de absorción de alizarina, purpurina y extracto de rubia en acetonitrilo.^[12]

Debido a lo anterior y a los bajos límites de detección requeridos, pues los colorantes son muchas veces componentes minoritarios que no rebasan el 10% en masa de la fuente natural en que se encuentran, se ha difundido el uso de técnicas cromatográficas para su cuantificación, principalmente HPLC^[13]. Sin embargo, el alto costo y tiempo de análisis requerido hace necesario el desarrollo de métodos analíticos más económicos y que requieran menos tratamiento de muestra, además de poseer bajos límites de detección. En este sentido, los métodos electroquímicos proporcionan una gran alternativa, pues la gran mayoría de los colorantes naturales son compuestos orgánicos con diversos grupos funcionales susceptibles de sufrir reacciones de óxido-reducción. En el caso de los colorantes objeto de estudio del presente trabajo, se contempla como posible un estudio electroquímico de los mismos, pues diversos autores ya han realizado estudios de compuestos de tipo antraquinónico y algunos de sus complejos con cationes metálicos por vía electroquímica.^[14,15]

Otra aportación importante al campo de los colorantes naturales es la elucidación de los equilibrios de complejación que se presentan entre este tipo de compuestos y diferentes cationes metálicos, ya que dichos equilibrios constituyen la parte

medular de los procesos de mordentado y formación de lacas o pigmentos. Por su parte, la alizarina, al ser el compuesto colorido presente en mayor cantidad en la mayoría de las variedades de la familia *Rubiaceae*, ha sido más estudiado y de él se sabe que forma un complejo del tipo $Al(Alzrn)_2$ (Figura 11), en cambio para la purpurina se desconocen aún las estequiometrías y constantes de formación (k_f) de los complejos que forma con $Al(III)$ y otros cationes metálicos de uso común en el mordentado, como $Ca(II)$ y $Mg(II)$.

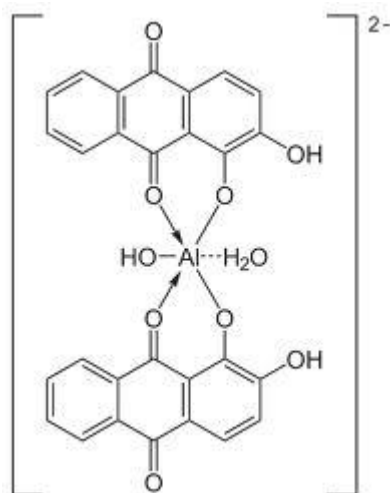


Figura 11. Estructura del complejo de alizarina con Aluminio (III). ^[16]

2.5 Fundamentos de Electroquímica

Para entender la base metodológica del estudio analítico de colorantes utilizando la polarografía se requieren conocimientos previos referentes a las técnicas electroquímicas, por medio de las cuales se puede obtener información del sistema cuando se producen reacciones de óxido-reducción.

Todas las técnicas electroanalíticas son ejemplos de la electrólisis. La electrólisis es el proceso por el que se fuerza a que ocurra una reacción química en un electrodo imponiendo un voltaje^[17].

2.5.1 Teoría de la electrólisis.

En el estudio de la electrólisis se supone como válida la siguiente hipótesis: las velocidades de todas las reacciones que tienen lugar, cambios de electrones y desplazamientos de los iones de las moléculas, son infinitas.

Por ejemplo, al introducir en una disolución dos conductores A (ánodo) y C (cátodo), conectados a un generador de corriente eléctrica (ver Figura 12), donde la corriente i pasa en el sentido de la flecha, entonces los electrones circularán en sentido inverso por el conductor metálico partiendo de A y llegando en el mismo número al electrodo C.

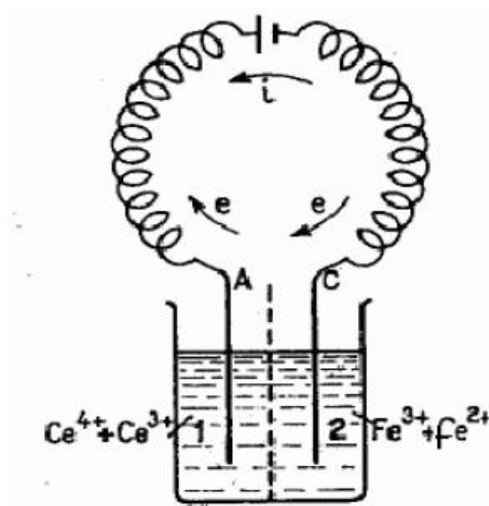
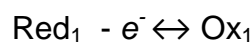
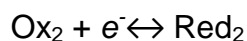


Figura 12. Ejemplo del proceso de electrólisis^[21].

Pero ya que los electrones no pueden existir en estado libre en la disolución, deben ser necesariamente suministrados por A, procedentes de una reacción de oxidación:



De tal forma que los electrones que llegan a C serán consumidos en una reacción de reducción:



En el interior de la disolución el paso de la corriente corresponde al movimiento de las cargas transportadas por los iones. Este fenómeno se conoce como *migración*.

El electrodo donde tiene lugar la oxidación se llama ánodo, y en el que tiene lugar la reducción, cátodo; los electrones circulan en el conductor metálico del ánodo al cátodo^[18].

2.5.2 La Polarografía.

Dentro de los métodos electroanalíticos, la voltamperometría incluye al conjunto de técnicas en las que la información sobre el analito se obtiene a partir de medidas de intensidad de corriente (i) en función del potencial (E) aplicado al electrodo indicador o de trabajo. Cuando se utiliza un electrodo de gota de mercurio (EGM) como electrodo de trabajo, la técnica recibe el nombre de *polarografía*.

En la polarografía se mide la corriente que circula entre el electrodo de gota de mercurio y un electrodo auxiliar inerte, normalmente un alambre de platino. El voltaje se mide entre el electrodo de gota de mercurio y un electrodo de referencia.

El electrodo de gota de mercurio consta de un tubo de vidrio capilar largo (10-15 cm de longitud), con un diámetro interno entre 0,06 y 0,08 mm, conectado a un depósito de mercurio. La frecuencia de caída de la gota, es típicamente de una gota cada 1-6 segundos; la gota de mercurio crece continuamente hasta que cae, y se mide la corriente y el voltaje, y de nuevo empieza a formarse otra y se hace la siguiente medida. Actualmente se cuenta con dispositivos automatizados que controlan la caída de la gota de mercurio con un martillo impulsado de forma mecánica o con impulsos electromagnéticos como se muestra en la Figura 13.

Las principales ventajas del electrodo de gota de mercurio son:

- Las curvas de intensidad potencial obtenidas con el EGM son muy reproducibles, ya que el área del electrodo se renueva continuamente.
- El EGM presenta una elevada sobretensión para la reducción de los iones H^+ , lo cual amplía considerablemente el campo para efectuar reducciones en medio ácido.

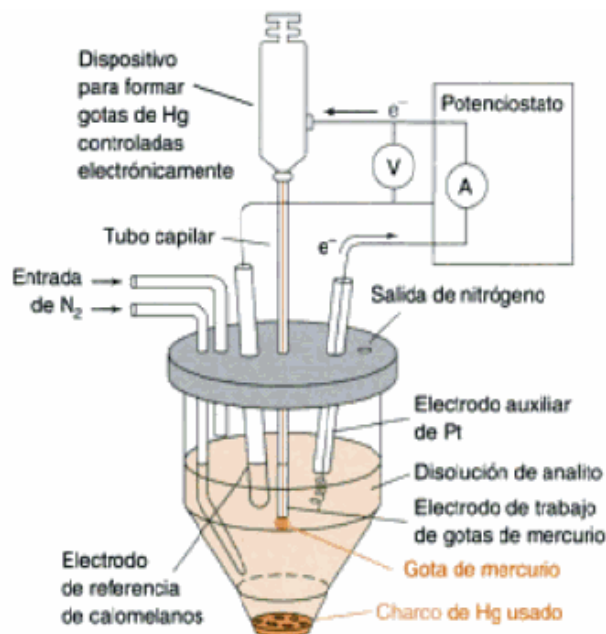
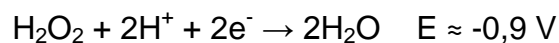
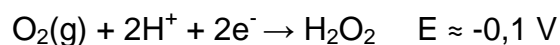


Figura 13. Electrodo de gota de mercurio y celda polarográfica^[17]

Entre los inconvenientes cabe mencionar que la oxidación del mercurio tiene lugar a potenciales ligeramente superiores a 0 V cuando se usa una referencia de Ag/AgCl, lo cual limita el uso del electrodo como ánodo. Una dificultad inherente al análisis voltamperométrico (y no atribuible exclusivamente al EGM) es la interferencia del oxígeno disuelto, debido a que produce dos ondas de reducción correspondientes a los procesos:



Por este motivo, es necesario eliminar el oxígeno disuelto, burbujear nitrógeno o argón durante unos minutos en la disolución donde está contenido el analito^[19].

2.5.3 El polarograma

Las curvas de intensidad de corriente contra potencial que se obtienen con el electrodo de gota de mercurio se denominan polarogramas.

Los parámetros de mayor interés en la polarografía desde el punto de vista analítico son la intensidad de corriente y el potencial. La intensidad de corriente límite (i_d), se establece cuando en una reducción el potencial es lo suficientemente negativo para que todo el analito que llega a la superficie del electrodo se reduzca. La intensidad de corriente es la variable cuantitativa en la polarografía. El potencial de media onda $E_{1/2}$, que es el potencial al cual la intensidad es la mitad de la corriente límite, es la variable cualitativa del método, debido a que es característico del analito en un determinado medio.

En la polarografía normalmente se utiliza un montaje con tres electrodos. Se mide la diferencia de potencial entre el electrodo de trabajo y el de referencia con un voltímetro de alta resistencia interna, de modo que por ese circuito apenas circula corriente. De esta forma, el potencial medido es el correspondiente al electrodo indicador. En el electrodo auxiliar ocurre la electrólisis, y puede ser de cualquier forma o material.

En la Figura 14, se observa el polarograma típico de un medio acuoso. Por convención, las reacciones de oxidación tienen un valor de intensidad de corriente positiva (+) y las de reducción un valor negativo (-). Es decir, las curvas de intensidad-potencial de los procesos de oxidación aparecerán en la parte superior del diagrama, mientras que para las reacciones de reducción las curvas de intensidad-potencial aparecerán en la parte inferior^[18,19].

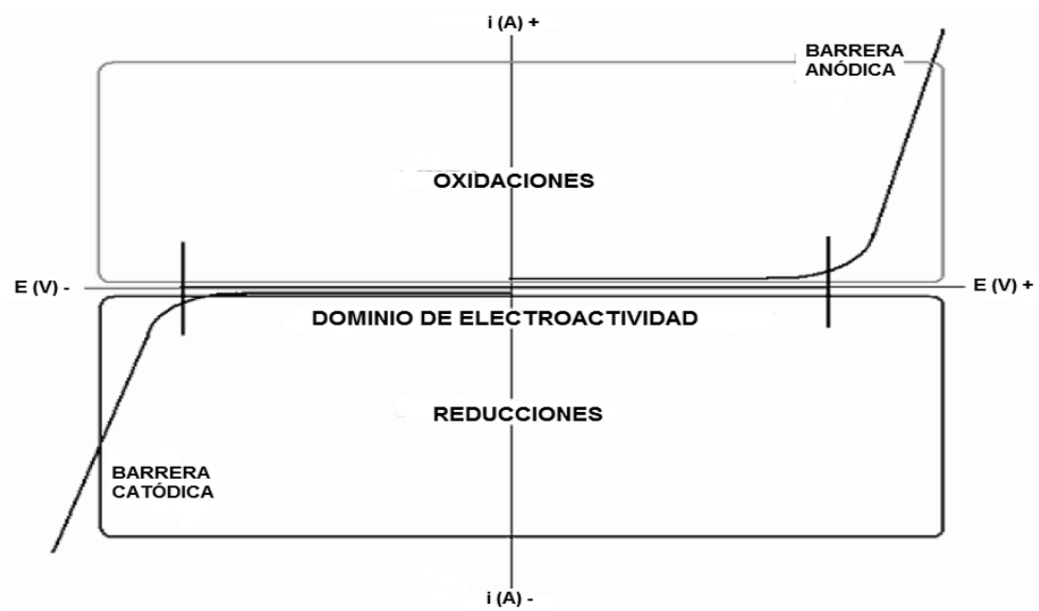
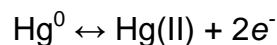


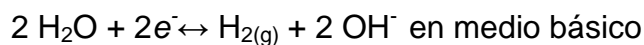
Figura 14. Polarograma típico de un medio acuoso.

En el polarograma de la Figura 14, la señal de oxidación de intensidad de corriente de valor ilimitado (parte superior derecha de la curva), se le asigna a la siguiente reacción de oxidación:

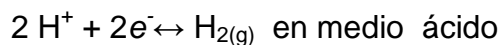


A esta señal de oxidación se le conoce con el nombre de *barrera anódica del dominio de electroactividad* o simplemente *barrera anódica*.

A la señal de reducción de intensidad de corriente de valor ilimitado (parte inferior izquierda de la curva), se le asigna la siguiente reacción de reducción:



ó



A esta señal de reducción se le conoce con el nombre de *barrera catódica* del dominio de electroactividad.

Al intervalo de potenciales que se encuentran entre la barrera anódica y la barrera catódica se le conoce con el nombre de *dominio de electroactividad*. Las especies que se oxidan o se reducen dentro del dominio de electroactividad se conocen como *especies electroactivas*^[18].

2.5.4 Transporte de materia al electrodo.

Existen tres fenómenos a través de los cuales la materia puede aproximarse al electrodo: migración, difusión y convección.

La *migración* se produce por el movimiento de una especie cargada bajo la influencia de un campo eléctrico; la *difusión* es el movimiento de una especie bajo la influencia de un gradiente de potencial químico (por ejemplo, un gradiente de concentración) y la *convección* consiste en el desplazamiento de sustancias bajo la influencia de agitación o cualquier otra forma de transporte.

Con la intención de disminuir la resistencia interna de la celda electroquímica y asegurar que la especie electroactiva se acerque al electrodo por difusión, es decir, para desprestigiar el aporte de la especie electroactiva en la migración, se opera en presencia de una concentración relativamente alta de un electrolito fuerte o "verdadero", conocido como *electrolito soporte*. Para ello suelen utilizarse ácidos fuertes (HCl, H₂SO₄), sales neutras (cloruros, sulfatos, nitratos o percloratos alcalinos), disoluciones tampón o incluso agentes complejantes (tartrato, citrato, cianuro, fluoruro, amoníaco) en concentraciones al menos 1000 veces superiores al analito^[19].

2.5.5 Aplicaciones de la polarografía en el análisis cualitativo y cuantitativo

La utilización de la polarografía con fines cualitativos consiste en registrar el polarograma de la muestra en un determinado electrolito soporte y comparar el potencial de media onda o el potencial de pico con el de especies conocidas registradas en el mismo medio. Esto es teóricamente posible debido a que, para procesos redox reversibles, el potencial de media onda es una característica de la especie electroactiva y del medio (electrolito soporte), no dependiendo de la concentración ni de las características del capilar utilizado. Para procesos irreversibles, el potencial de media onda depende de la concentración y de las características del electrodo, si bien, la influencia de estos factores sobre $E_{1/2}$ no es lo suficientemente grande como para impedir la identificación de una especie por su $E_{1/2}$.

Con fines de análisis cuantitativo se mide la intensidad de corriente i_d , para lo cual se utiliza la altura de pico o de onda correspondiente a cada analito y se compara con la curva de calibrado trazado para diferentes concentraciones de la especie en el mismo medio.

Si las características del electrodo permanecen invariables, así como la naturaleza de la disolución, i_d es proporcional a la concentración (C), siendo esta relación la base de la aplicación cuantitativa de la polarografía.

$$i_d = n K^D C \quad (1)$$

Donde K^D es la constante de difusión convectiva y n el número de electrones intercambiados.

La no linealidad entre la intensidad de corriente y la concentración se debe con frecuencia a fenómenos de adsorción al electrodo, factores cinéticos, reacciones químicas acopladas, e incluso a la posible evaporación del disolvente durante el proceso de eliminación del oxígeno disuelto^[19].

2.5.6 Estudio matemático de las ondas polarográficas

Para sistemas sencillos las ondas polarográficas tienen un comportamiento expresado por la ecuación de Nernst (a 25°C):

$$E = E_{1/2} + \frac{0.059}{n} \log \left[\frac{i - i_{ox}}{i_{red} - i} \right] \quad (2)$$

Para procesos de reducción o catódicos, cuando no está presente el reductor conjugado, la ecuación anterior se escribe de la forma:

$$E = E_{1/2} + \frac{0.059}{n} \log \left[\frac{i - i_{ox}}{-i} \right] \quad (3)$$

Una gráfica de potencial contra $\log (i - i_{ox} / -i)$ es una línea recta cuya ordenada en el origen corresponde al potencial de media onda y la pendiente ($m = 0.059/n$) involucra el número de electrones intercambiados (n) y se relaciona con la cinética de la reducción y muestra si el proceso cumple con la ecuación de Nernst de manera ideal o no. En caso de que se cumpla la ecuación de Nernst se habla de un sistema electroquímicamente rápido o reversible.

El potencial de media onda es característico de cada sistema óxido–reductor en un determinado medio y en general es independiente de la concentración de la especie electroactiva; es el potencial al cual la corriente es la mitad de la corriente límite ($i=i_d/2$) y se transforma la mitad de los iones de la especie que se encuentra en el electrodo. Proporciona información sobre la velocidad con la que se alcanza el equilibrio de reacción en la superficie del electrodo^[21]. Para sistemas que se alejan del comportamiento nernstiano o ideal, las ondas polarográficas se pueden representar según la ecuación de Tafel:

$$\log i = \log i_0 - \frac{\alpha n F}{2.3 RT} * \eta \quad (4)$$

Donde η es el sobrepotencial ($\eta = E - E_{eq}$), i es la corriente, i_0 es la corriente de intercambio, que representa la corriente que se transfiere al potencial de equilibrio (E_{eq}), α es el coeficiente de transferencia de carga, n el número de electrones intercambiados, F es la constante de Faraday, R la constante universal de los gases y T la temperatura absoluta. En esta ecuación i_0 y α representan los parámetros cinéticos, siendo mayor la velocidad de intercambio de electrones (sistema reversible) para valores mayores de i_0 y valores de α cercanos a 0.5.

2.5.7 Polarografía diferencial de impulsos (PDI)

Hasta el momento, todo lo descrito en este capítulo hace referencia a las condiciones generales de la técnica llamada *polarografía clásica*.

Existen variaciones de esta técnica, como lo es la *polarografía diferencial de impulsos*, la cual utiliza pequeños impulsos superpuestos a una rampa lineal de voltaje, como se muestra en la Figura 15. La altura de un impulso se llama amplitud de modulación. Estos impulsos, de una magnitud de 5 – 100 mV, se aplican durante los últimos 50 ms de la vida de la gota de mercurio. Luego se desprende mecánicamente la gota. Se mide la corriente una vez antes de aplicar el impulso (punto S_1), y otra vez durante los 17 últimos ms de cada impulso (punto S_2). El polarógrafo resta la primera corriente de la segunda, y representa esta diferencia frente al potencial aplicado.

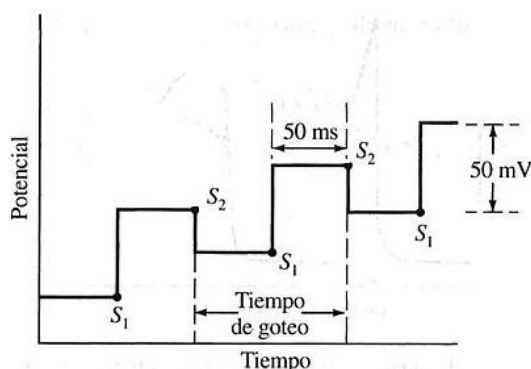


Figura 15. Señales de excitación en polarografía diferencial de impulsos.

Debido a que en ésta técnica la medida de corriente corresponde a una diferencia, el aspecto del polarograma por polarografía diferencial de impulsos se asemeja a la derivada del polarograma por polarografía clásica, es decir que está constituido por picos en lugar de ondas. El potencial de pico E_p posee un valor muy cercano al potencial de media-onda $E_{1/2}$. (Figura 16)

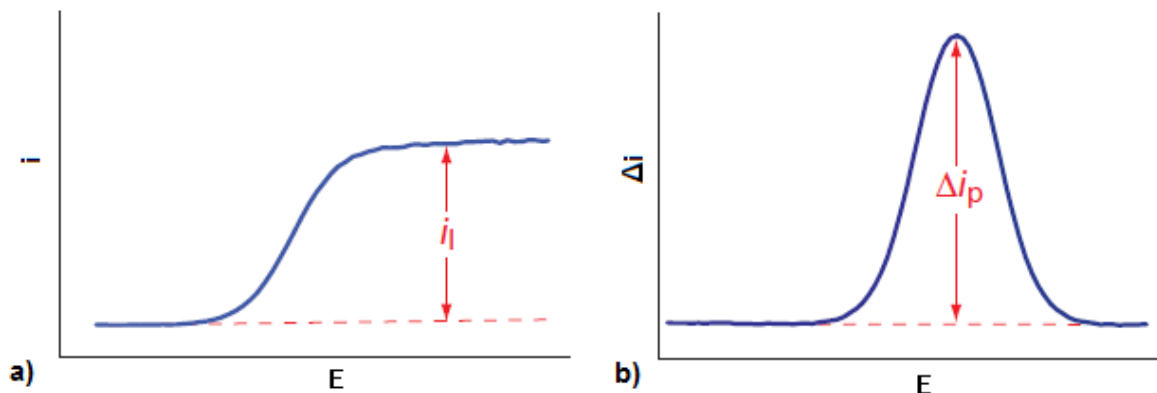


Figura 16. Comparación de polarogramas por a) polarografía clásica y b) polarografía diferencial de impulsos.

Los límites de detección de las técnicas polarográficas vienen fijados normalmente por la magnitud de la corriente capacitiva, la cual es el flujo de la carga que se almacena entre la interface electrodo/disolución, mejor conocida como "doble capa".

La polarografía diferencial de impulsos presenta límites de detección menores que la polarografía clásica; por medio de ella se pueden medir concentraciones de hasta 10^{-8} M, mientras que por la clásica se detectan concentraciones de hasta 10^{-6} M ^[20]. Esto se debe al aumento de la corriente faradaica acompañado de una disminución en la corriente capacitiva; ambos efectos son ocasionados por el tipo de programa de potencial aplicado y por el momento que se elige para medir la corriente.

En otras palabras, cuando se aplica un impulso, se provoca un aumento brusco de la especie electroactiva al electrodo, generando así un salto de la corriente faradaica y simultáneamente un aumento de la corriente capacitiva debido a la carga de la gota. Sin embargo, la corriente capacitiva disminuye más rápidamente que la corriente faradaica (Figura 17), de tal forma que al medir la corriente total justo antes de la caída de la gota, la corriente capacitiva es prácticamente nula y la faradaica aún es importante. De esta manera, al mejorar la relación corriente faradaica/corriente capacitiva se obtiene mayor sensibilidad.

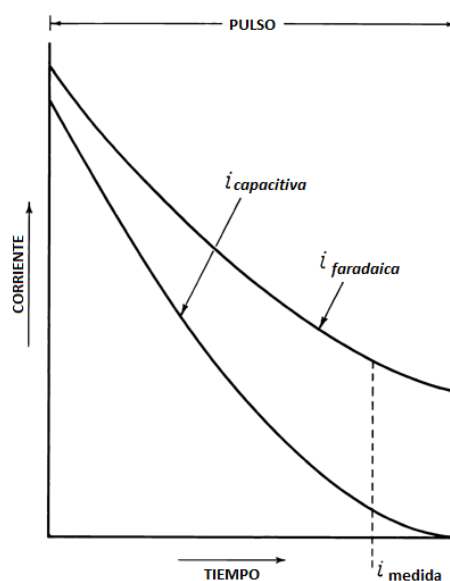


Figura 17. Esquema de la variación de la corriente capacitiva y de la corriente faradaica durante la aplicación del impulso en polarografía diferencial de impulsos.

Adicionalmente, la polarografía diferencial de impulsos proporciona una mejor resolución de ondas contiguas que la polarografía clásica, por lo que es más fácil distinguir máximos derivados parcialmente superpuestos que ondas polarográficas parcialmente solapadas.

3. OBJETIVOS

3.1 *Objetivo general*

Realizar el estudio electroquímico fundamental de la purpurina para determinar su contenido en un extracto de origen natural.

3.2 *Objetivos particulares*

- Realizar el estudio electroquímico fundamental de la purpurina y alizarina en DMSO por polarografía.
- Estudiar la formación de complejos de purpurina con Ca(II), Mg(II) y Al(III), esto es, determinar su estequiometría y constante de formación.
- Determinar el contenido de purpurina y si es posible también de alizarina en un extracto de origen natural.

4. METODOLOGÍA

4.1 Reactivos

Tabla 1. Reactivos utilizados.

Reactivo	Pureza	Marca comercial
Nitrato de calcio tetrahidratado	R.A.	Mallinckrodt
Nitrato de aluminio nonahidratado	R.A.	J.T. Baker
Nitrato de magnesio hexahidratado	R.A.	J.T. Baker
Purpurina	R.A.	Aldrich
Alizarina	R.A.	Merck
Agua desionizada		
Dimetilsulfóxido	99.9 %	J.T. Baker
Nitrógeno de alta pureza	99.9 %	Praxair

4.2 Equipo

- Polarógrafo VA 797 Computrace, marca Metrohm
- Electrodo de referencia: Ag/AgCl/KCl_{ac} 3M
- Electrodo auxilliar: alambre de Platino
- Electrodo de trabajo: Electrodo de gota de mercurio (EGM)
- Balanza analítica Mettler AE240

4.3 Muestra analizada

- Madder extract (*Rubia cordifolia*).
 Contenido: 57 g
 Marca: Griffin Dyeworks & Fiber Arts
 Aspecto: polvo fino color rojo.

4.4 Pruebas de solubilidad

Con el objetivo de encontrar un medio en el cual la purpurina sea completamente soluble y además permita realizar un estudio de tipo electroquímico al poseer un valor de constante dieléctrica apropiado, se realizaron pruebas de solubilidad de la purpurina en diferentes disolventes. Para ello se colocaron, en diferentes tubos de ensayo, entre 1 y 2 mL de los disolventes a probar, que fueron: agua, mezcla EtOH/agua 80:20, EtOH absoluto y DMSO. En cada tubo se colocaron además entre 10 y 20 mg de purpurina aproximadamente, posteriormente cada tubo se agitó vigorosamente y se procedió a observar el aspecto físico de la mezcla, es decir, si el disolvente se tornó de color rojo (el color de la purpurina) y en qué grado, y si se observaba la presencia de un sólido en el fondo del tubo. Cuando se observó la presencia de un sólido aún no disuelto, se repitió el procedimiento anterior hasta 2 veces más. Se anotaron todas las observaciones.

4.5 Estudio electroquímico fundamental de purpurina y alizarina

El estudio electroquímico de purpurina y alizarina se realizó por medio de polarografía. Para la detección de las posibles señales de ambos compuestos se trazaron las curvas de intensidad-potencial (i/E) por polarografía clásica (PC) y polarografía diferencial de impulsos (PDI). El equipo utilizado para realizar las mediciones de las curvas i/E fue un polarógrafo VA 797 Computrace, marca Metrohm, con un electrodo de trabajo de gota de mercurio (EGM), un electrodo de referencia de $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}_{\text{ac}} 3\text{M}$ y un electrodo auxiliar de platino. Como medio de trabajo y electrolito soporte se utilizó una disolución de LiClO_4 0.1 M en DMSO. Como primer paso se trazó la curva i/E del electrolito soporte, esta curva se conoce como corriente residual, con ella se determinó el dominio de electroactividad. Se utilizaron además disoluciones de purpurina y alizarina en DMSO 0.0101 y 0.0102 M respectivamente.

La metodología de trabajo consistió en colocar 10.0 mL de electrolito soporte en la celda electroquímica y burbujear nitrógeno durante 10 minutos, esto último con el propósito de desplazar al oxígeno disuelto, a continuación se mide la corriente residual y posteriormente se realizan adiciones de disolución de purpurina o alizarina con ayuda de una micropipeta con capacidad máxima de 100 μL . Luego de cada adición se registra la correspondiente curva de i/E , bajo las siguientes condiciones: velocidad de barrido de 5 mV s^{-1} , barrido de potencial desde -2.2 hasta 0.34 V, en el caso de PDI se utiliza una amplitud de pulso de 50 mV y duración de pulso de 0.04 s; para los experimentos de voltamperometría cíclica se trabajó realizando barridos con un potencial inicial de 0.4 V, potencial intermedio de -1.5 V y final de 0.4 V, las velocidades de barrido empleadas fueron 10, 25, 50, 100, 125 y 250 mV s^{-1} .

4.6 Valoraciones complejométricas

Las valoraciones complejométricas se llevaron a cabo colocando en la celda electroquímica 10.0 mL de electrolito soporte y registrando su correspondiente corriente residual después de burbujear con nitrógeno por 10 minutos, a continuación, se agregaron con precisión de 500 a 1000 μL de disolución de purpurina o alizarina según el caso, después de ello se realizaron entre 10 y 15 adiciones de 100 μL de disolución de catión (para lo cual se emplearon disoluciones de Ca(II) 0.0102 M, Mg(II) 0.010 M y Al(III) 0.0107 M, todas ellas preparadas con DMSO como disolvente), esto con el objetivo de obtener diferentes proporciones para la relación molar catión:purpurina/alizarina durante la valoración; después de las adiciones tanto de purpurina y alizarina como de disolución de catión, la celda se burbujeó de nuevo con N_2 pero ya sólo durante 2 minutos y se registró la respectiva curva de i/E utilizando la técnica de polarografía diferencial de impulsos. Este procedimiento se efectuó utilizando el mismo equipo de análisis polarográfico descrito en el apartado anterior.

4.7 Cuantificación en un extracto de origen natural

Para la determinación del contenido de purpurina y alizarina en el extracto de origen natural, se pesaron 0.0647 g del extracto, a los cuales se agregaron aproximadamente 10 mL de DMSO, esta disolución se filtró de manera rápida y el filtrado se llevó al aforo hasta 25.0 mL también con DMSO. Utilizando el mismo equipo de análisis polarográfico que en los experimentos anteriores, se colocaron en la celda electroquímica 10.0 mL de electrolito soporte, se purgó el sistema burbujeando nitrógeno durante 10 minutos, posteriormente se realizaron adiciones de la disolución preparada con el extracto hasta llegar a un volumen total de 1600 μL agregados, el experimento continuó con la adición de 3 alícuotas de 30 μL de purpurina 0.0101 M y después de 3 alícuotas de 30 μL de alizarina 0.0102 M. Se burbujeó la celda con N_2 durante 2 minutos y se registraron las curvas de i/E utilizando la técnica de polarografía diferencial de impulsos para el electrolito soporte y después de cada adición de disolución de extracto y de estándares de alizarina y purpurina.

5. RESULTADOS Y ANÁLISIS

5.1 Pruebas de solubilidad

Como primer ensayo, se realizaron pruebas de solubilidad de la purpurina en agua, mezclas etanol/agua, etanol y dimetilsulfóxido (DMSO). Se encontraron los siguientes resultados:

Tabla 2. Resultados de las pruebas de solubilidad.

Disolvente	Observaciones
H₂O	Prácticamente insoluble
EtOH: H₂O (80:20)	Ligeramente soluble
EtOH	Medianamente soluble
DMSO	Totalmente soluble

Como se observa en la tabla 2, la purpurina presenta una solubilidad mayor en DMSO. Aunque los extractos de este colorante se obtienen a partir de extracciones alcohólicas y por ello hubiera resultado útil realizar el estudio electroquímico con disoluciones de purpurina en etanol, esto no es posible debido a la baja solubilidad que presenta la purpurina en este disolvente a temperatura ambiente, por lo que el disolvente elegido para realizar el estudio electroquímico fue DMSO.

5.2 Dominio de electroactividad

El primer parámetro electroquímico establecido fue el dominio de electroactividad, esto se logró realizando un barrido de potencial desde -2.5 hasta 0.5 V, con una velocidad de barrido de 5 mV/s, en una celda electroquímica que contenía 10 mL de LiClO_4 0.1M en DMSO. Como se muestra en la figura 18, el dominio de electroactividad para este medio posee una barrera catódica en -2.1 V y una barrera anódica en 0.34 V.

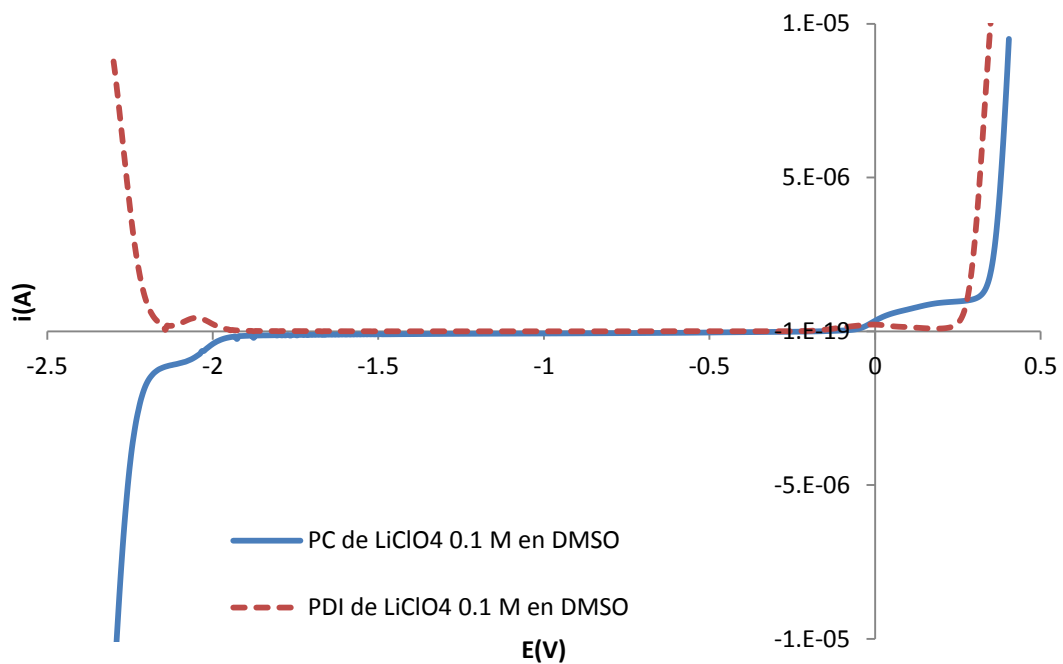


Figura 18. Curvas i/E de la corriente residual en PC y PDI; electrolito soporte LiClO_4 0.1 M en DMSO.

5.3 Electroquímica fundamental de la purpurina

5.3.1 Polarografía clásica (PC)

Para realizar el estudio polarográfico de la purpurina se utilizaron 10 mL de LiClO_4 0.1 M en DMSO como electrolito soporte, al cual se añadieron alícuotas de 30 ó 50 μL de una disolución de purpurina 0.0101 M en DMSO, hasta llegar a los 370 μL agregados, es decir, a una concentración de 3.6×10^{-4} M de purpurina en la celda. Luego de cada adición se burbujeó N_2 durante 2 minutos y se realizó un barrido de potencial utilizando la técnica de polarografía clásica (PC), con una velocidad de barrido de 5 mV/s. La figura 19 muestra los polarogramas correspondientes a 0, 170, 270 y 370 μL de purpurina 0.0101 M añadidos a la celda electroquímica.

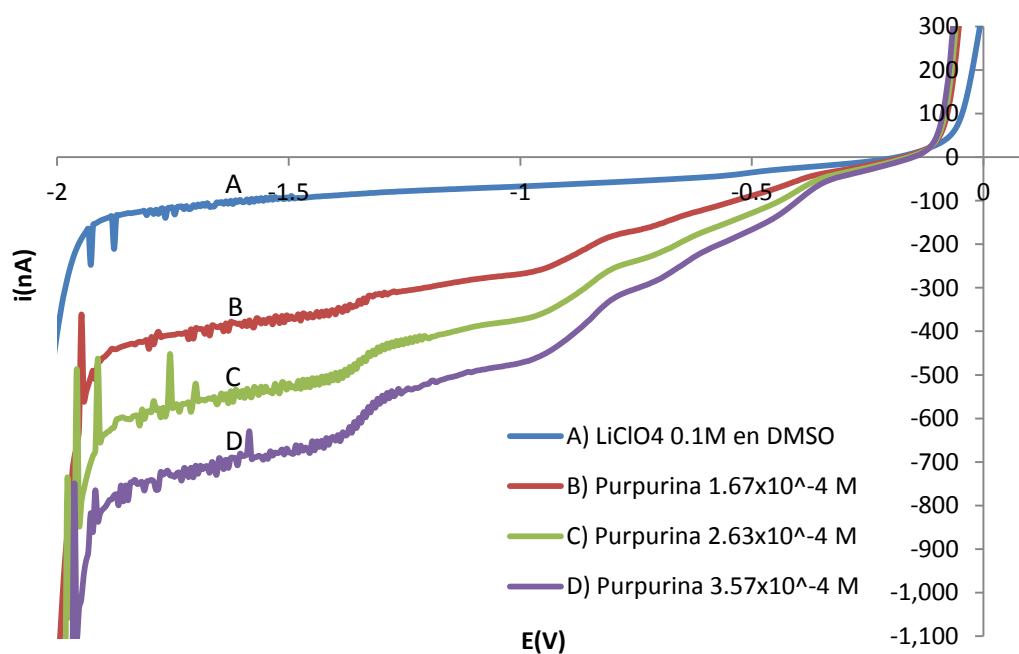


Figura 19. Curvas i/E en polarografía clásica (PC) para diferentes concentraciones de purpurina en DMSO.

En los polarogramas de la Figura 19 se observa que la purpurina posee 4 señales de reducción, situadas en -382, -609, -850 y -1330 mV respectivamente. Cada una de estas señales posee intensidades de corriente diferentes que además incrementan conforme aumenta la concentración de purpurina en disolución, en especial la señal alrededor de -1330 mV se define mejor que las demás y presenta mayor sensibilidad.

Ya que la señal en -1330 mV es dependiente de la concentración de purpurina, como se indicará en la siguiente sección, y además posee la mayor intensidad de corriente durante todo el intervalo de concentración al que se trabajó, se realizó un estudio logarítmico para verificar la idealidad del sistema electroquímico con la ecuación de Nernst y a su vez se aplicó el modelo de Tafel para evaluar su reversibilidad.

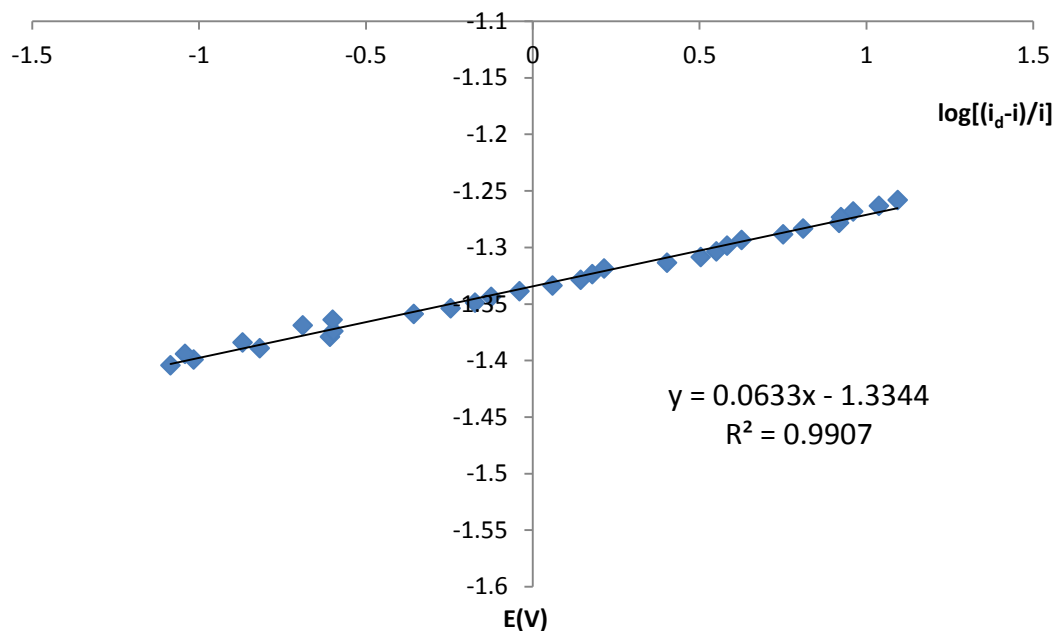


Figura 20. Análisis logarítmico de la señal de reducción de purpurina en -1.33 V.

El valor de la ordenada al origen para el análisis logarítmico (Figura 20) indica que la señal de reducción posee un $E_{1/2} = -1.33$ V y, ya que el valor de la pendiente de la recta es muy cercano a 0.059, se puede considerar que el número de electrones involucrados en la reducción electroquímica (n) es de 1, si se presenta comportamiento nernstiano, o mayor a 1 si no se presenta comportamiento nernstiano.

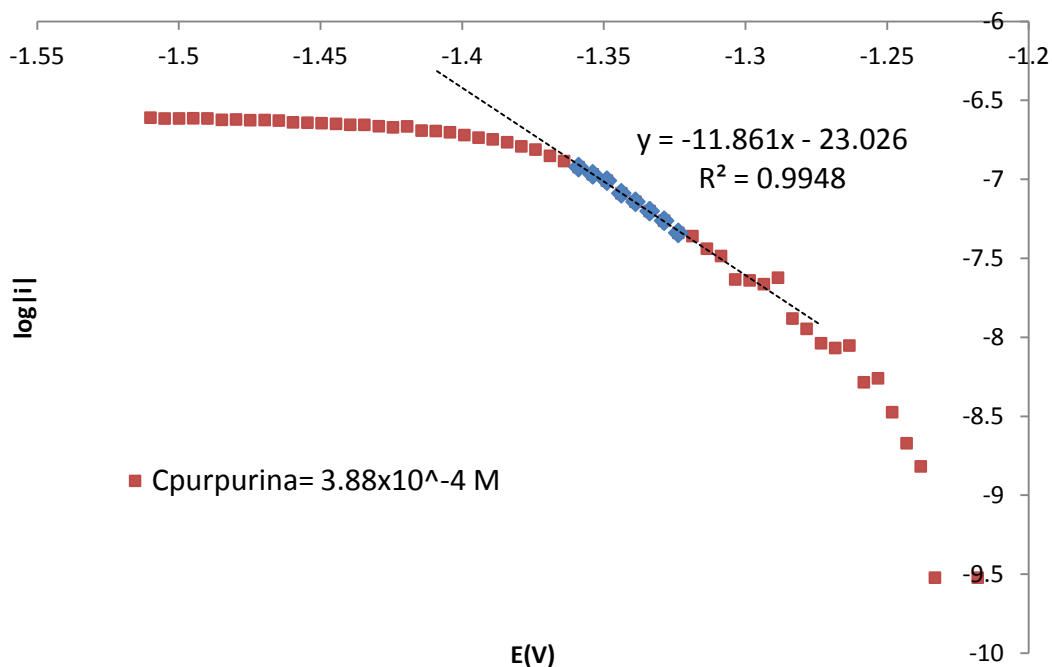


Figura 21. Gráfico de Tafel de purpurina en DMSO.

De acuerdo a la Figura 21, y al realizar el tratamiento matemático descrito en la sección 9.2 de los anexos (pág. 75) se obtienen los siguientes parámetros del sistema redox según la ecuación de Tafel (tabla 3):

Tabla 3. Parámetros cinéticos de la ecuación de Tafel para la reducción de purpurina a -1.33 V.

Parámetro	Valor
$\log i_0$	-8.44
i_0	3.63×10^{-9} A
m	-11.861
αn	0.701
α	0.3505

Dos criterios importantes para evaluar la cinética de las reacciones electroquímicas son la corriente de intercambio (i_0) y el coeficiente de transferencia de carga (α). Para este caso se obtiene un valor de corriente de intercambio de $i_0=3.63 \times 10^{-9}$ A, lo cual indica que el sistema no es reversible, es decir, que la velocidad de transferencia de electrones está influida por algún fenómeno, que puede ser de adsorción, la presencia de reacciones químicas acopladas o la misma naturaleza y condiciones del medio de estudio o electrolito soporte. De igual manera se obtiene un valor de coeficiente de transferencia de carga $\alpha=0.3505$, bajo el supuesto de que se intercambien al menos 2 electrones, que también indica la no reversibilidad del sistema, pues los sistemas reversibles poseen valores de α cercanos a 0.5.

5.3.2 Polarografía diferencial de impulsos (PDI)

Se trazaron curvas i/E con la técnica de polarografía diferencial de impulsos a diferentes concentraciones de purpurina en disolución, y ya que esta técnica posee mayor sensibilidad que la polarografía clásica, con ella se determinó la dependencia de la corriente medida con respecto a la concentración de purpurina en disolución, con el objeto de determinar cuáles de las señales de reducción presentes en las curvas polarográficas correspondían a procesos electroquímicos

governados por la difusión, es decir, para qué señales la corriente es directamente proporcional a la concentración de purpurina. La Figura 22 muestra algunas curvas i/E obtenidas por PDI.

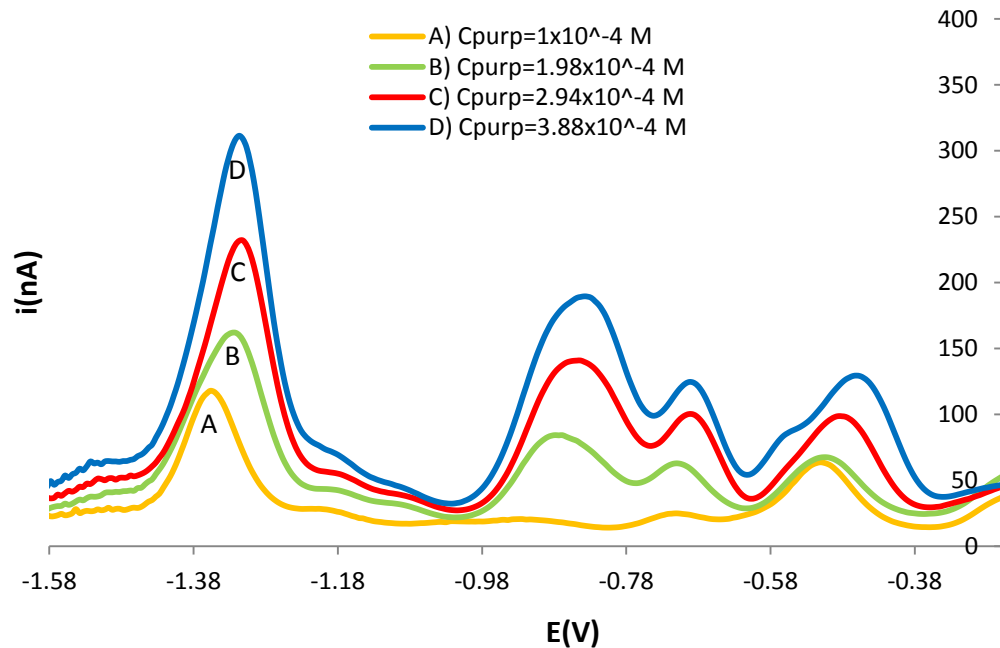


Figura 22. Curvas i/E en polarografía diferencial de impulsos (PDI) de purpurina a diferentes concentraciones en DMSO.

En la Figura 22 se observa que las señales de reducción presentes se definen mejor cuando se utiliza esta técnica, en comparación con la PC. Los potenciales de pico para cada señal no son exactamente los mismos que los potenciales de media onda ($E_{1/2}$), sin embargo, las señales sí corresponden a los mismos procesos.

Para determinar la dependencia de la corriente con respecto a la concentración de purpurina se graficaron los valores de i en función de $C_{\text{purpurina}}$, a partir de los cuales se realizó una regresión lineal por el método de mínimos cuadrados. Se

encontró que sólo en la señal en -1.33 V la corriente (i) es directamente proporcional a la concentración, como se muestra en la figura 23. De acuerdo a la regresión lineal realizada y al tratamiento matemático descrito en la sección 9.3 de los ANEXOS (pág. 78), se determinó que el límite de detección corresponde a 1.09×10^{-5} M ó 2.78 ppm.

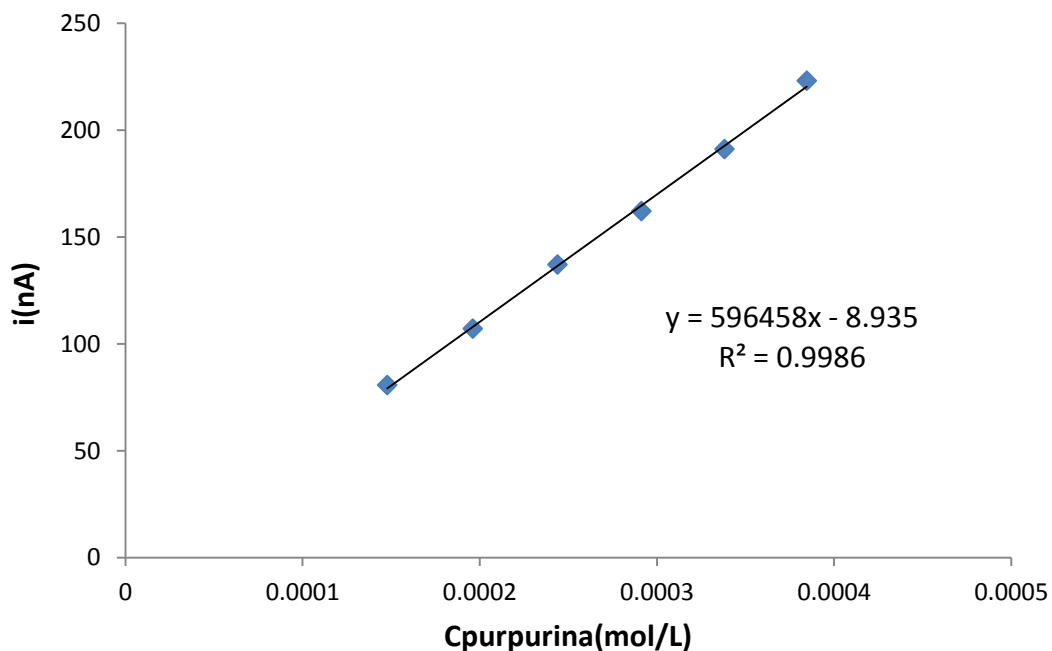


Figura 23. Curva de calibración para la señal en -1.33 V de purpurina en DMSO.

De acuerdo a lo anterior, la señal de reducción en -1.33 V puede resultar útil para la cuantificación de purpurina.

5.3.3 Voltamperometría cíclica

Mediante la técnica de voltamperometría cíclica, utilizando un electrodo de trabajo de gota colgante de mercurio, se obtuvieron las curvas i/E de purpurina en concentración 4.81×10^{-4} M a diferentes velocidades de barrido, en la figura 24 se muestran las curvas trazadas a 50, 100 y 250 mV/s.

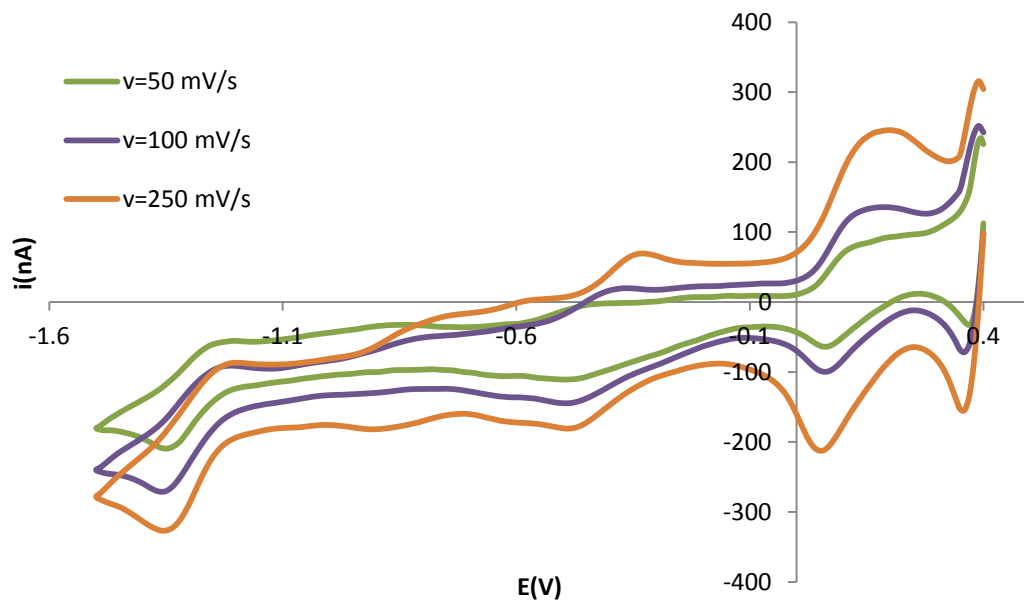


Figura 24. Curvas i/E en Voltamperometría Cíclica (VC) de purpurina en DMSO a diferentes velocidades de barrido, $C_{\text{purpurina}} = 4.81 \times 10^{-4}$ M.

En la figura anterior se observa que para la señal de difusión de la purpurina, la que se encuentra en -1.33 V, el pico de oxidación posee una magnitud muy pequeña comparada con el correspondiente pico de reducción, es decir que la relación i_p^{ox} / i_p^{red} tiende a cero a bajas velocidades de barrido, además se observa que esta relación incrementa ligeramente a velocidades de barrido mayores, lo cual indica la presencia de una reacción química acoplada sobre el producto de reducción de la purpurina a este potencial.

5.4 Electroquímica fundamental de la alizarina

5.4.1 Polarografía clásica (PC)

Para realizar el estudio polarográfico de la alizarina se utilizaron 10 mL de LiClO_4 0.1 M en DMSO como electrolito soporte, al cual se añadieron alícuotas de 100 μL de una disolución de alizarina 0.0102 M en DMSO, hasta llegar a los 600 μL agregados, es decir, a una concentración de 5.77×10^{-4} M de alizarina en celda. Luego de cada adición se realizaba un barrido de potencial utilizando la técnica de polarografía clásica (PC), con una velocidad de barrido de 5 mV/s. La figura 25 muestra los polarogramas correspondientes a 0, 200, 300, 400, 500 y 600 μL de alizarina 0.0102 M añadidos a la celda electroquímica.

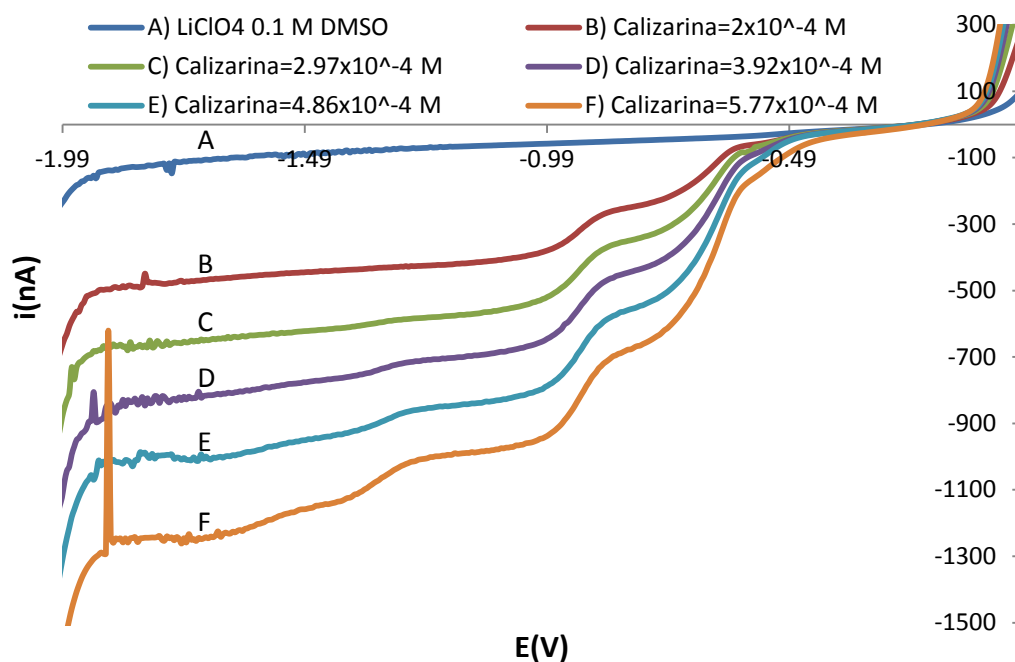


Figura 25. Curvas i/E en polarografía clásica (PC) para diferentes concentraciones de alizarina en DMSO.

En los polarogramas de la figura 25 se observa que la alizarina posee 5 señales de reducción, situadas en -511, -652, -924, -1330 y -1560 mV respectivamente. Las señales en -652 y -924 V presentan una mayor intensidad de corriente que las demás y se definen con claridad aún a bajas concentraciones, mientras que las señales en -511 y -1560 mV apenas se distinguen en la curva correspondiente a la mayor concentración de alizarina en disolución durante este experimento.

Ya que la señal en -652 mV es dependiente de la concentración de alizarina, como se indicará en la siguiente sección, y además posee la mayor intensidad de corriente durante todo el intervalo de concentración al que se trabajó, se realizó un estudio logarítmico para verificar la idealidad del sistema electroquímico con la ecuación de Nernst y a su vez se aplicó el modelo de Tafel para evaluar su reversibilidad.

En la figura 26 se muestra la gráfica del análisis logarítmico para la señal de reducción de alizarina en -652 mV. El valor de la ordenada al origen indica que dicha señal posee un $E_{1/2} = -0.652$ V, además, ya que el valor de la pendiente de la recta difiere de 0.059 o de un común divisor de dicho valor, se concluye que este sistema redox no se ajusta a la ley de Nernst y por lo tanto su comportamiento no es de tipo reversible.

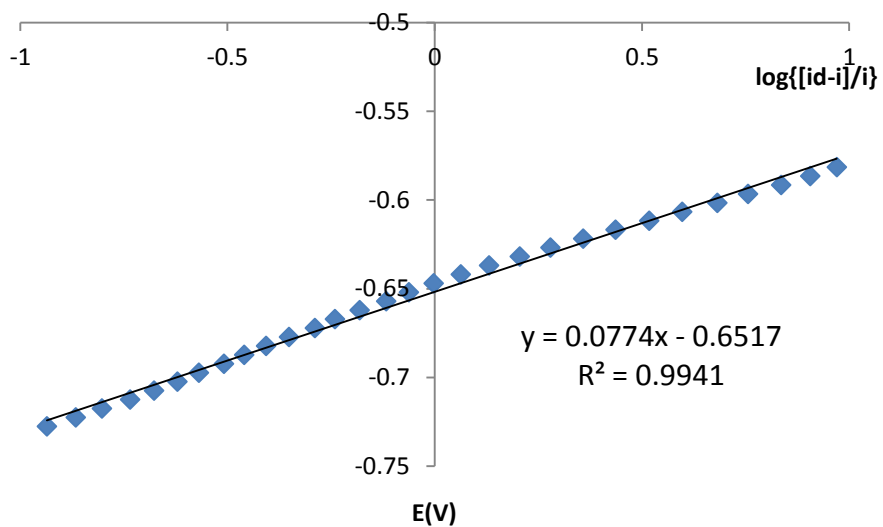


Figura 26. Análisis logarítmico de la señal de reducción de alizarina en -0.652 V.

En la figura 27 se muestra el gráfico de Tafel para la reducción de la alizarina en -0.652 V:

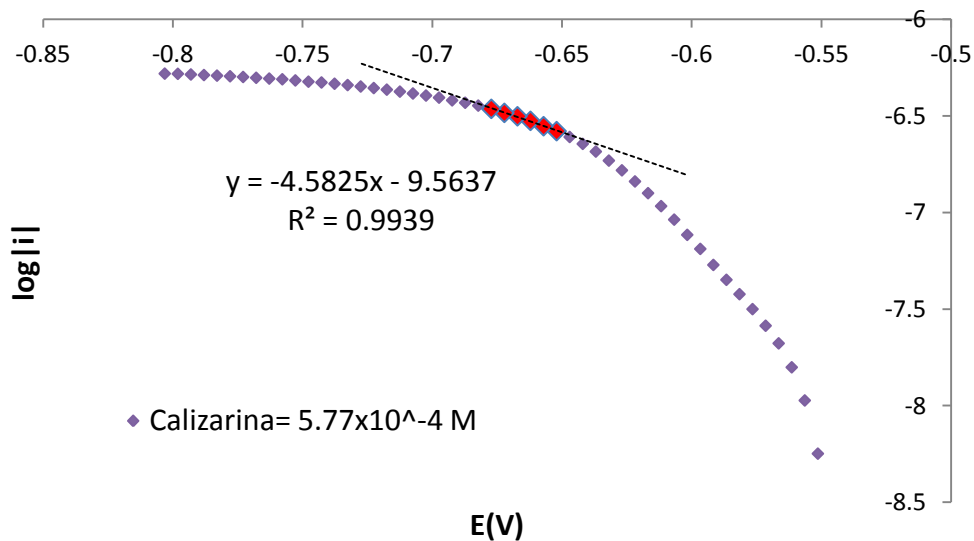


Figura 27. Gráfico de Tafel de alizarina en DMSO.

Al realizar el tratamiento indicado en la sección 9.2 de los anexos a partir de los datos de la figura 27 se obtienen los siguientes parámetros del sistema redox según la ecuación de Tafel (tabla 4):

Tabla 4. Parámetros cinéticos de la ecuación de Tafel para la reducción de alizarina a -0.652 V.

Parámetro	Valor
$\log i_0$	-7.04
i_0	$9.15 \times 10^{-8} \text{ A}$
m	-4.5825
αn	0.271
α	0.136

Para el caso de la alizarina se obtiene un valor de corriente de intercambio de $i_0=9.15 \times 10^{-8} \text{ A}$, que indica que el sistema no es reversible. También se obtiene un valor de coeficiente de transferencia de carga $\alpha=0.1355$, bajo el supuesto de que se intercambien al menos 2 electrones, este valor confirma la no reversibilidad del sistema, pues los sistemas reversibles poseen valores de α cercanos a 0.5.

5.4.2 Polarografía diferencial de impulsos (PDI)

Del mismo modo que se realizó con la purpurina, se trazaron curvas i/E por polarografía diferencial de impulsos a diferentes concentraciones de alizarina en disolución, con el objeto de determinar la dependencia de la corriente (i) con respecto a la concentración de alizarina, pues esta técnica posee mayor sensibilidad que la polarografía clásica. La figura 29 muestra algunas curvas i/E obtenidas por PDI.

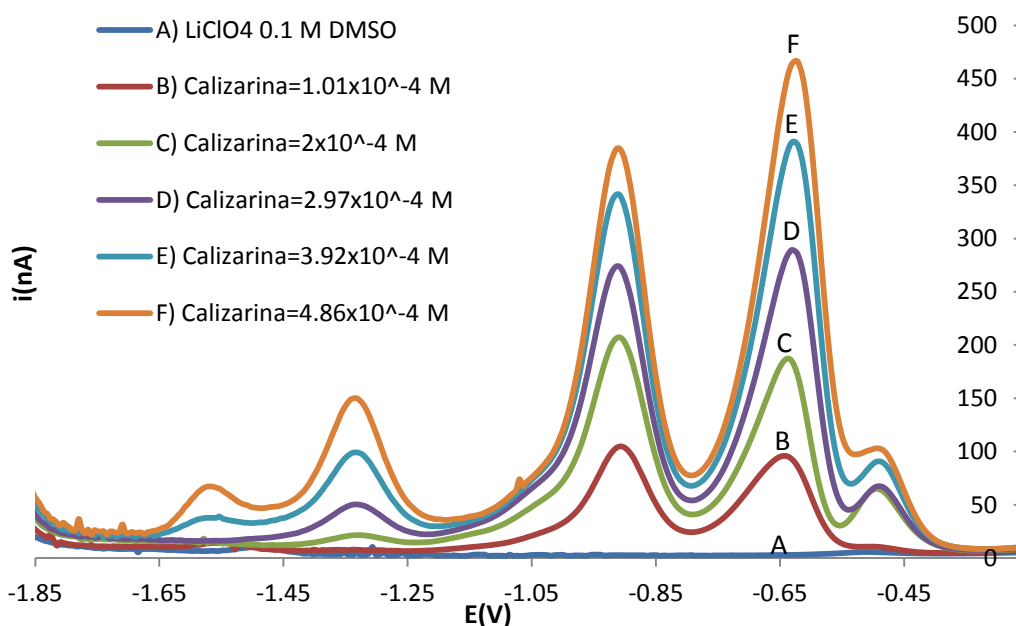


Figura 29. Curvas i/E en polarografía diferencial de impulsos (PDI) de alizarina a diferentes concentraciones en DMSO.

En la figura 29 se observa que las señales de reducción presentes se definen mejor cuando se utiliza esta técnica, en comparación con la polarografía clásica.

Para determinar la dependencia de la corriente con respecto a la concentración de alizarina se trazaron gráficas de i vs $C_{\text{alizarina}}$ a partir de las cuales se realizó una regresión lineal por el método de mínimos cuadrados. Se encontró que para la señal en -0.652 V la corriente (i) es directamente proporcional a la concentración. De acuerdo a la regresión lineal realizada, se determinó que el límite de detección para esta señal corresponde a 1.05×10^{-5} ó 2.53 ppm.

Las figuras 30, 31 y 32 muestran los gráficos de i vs $C_{\text{alizarina}}$, o curvas de calibración, para las señales en -0.652 , -0.909 y -1.33 V respectivamente. En la figura 30 se observa claramente cómo la corriente guarda una relación directamente proporcional con respecto a $C_{\text{alizarina}}$, lo que nos indica que la reducción en -0.621 V está gobernada por la difusión, volviendo útil a esta señal para la cuantificación de alizarina.

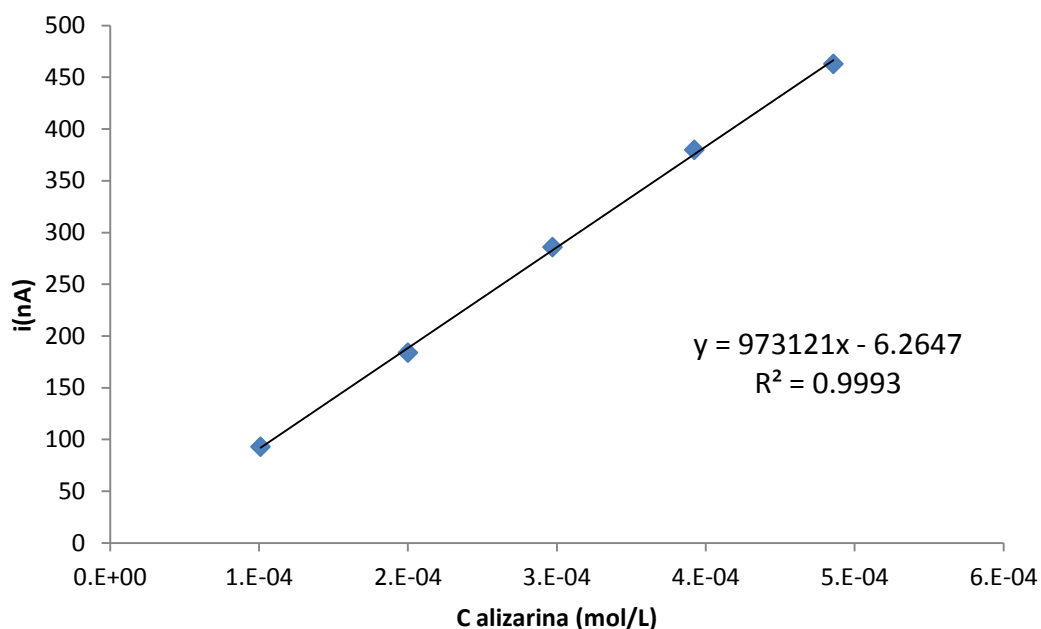


Figura 30. Curva de calibración para la señal en -0.652 V de alizarina en DMSO.

La figura 31 nos deja ver que la relación entre la corriente (i) y $C_{\text{alizarina}}$ a -0.909 V es próxima a ser lineal, sin embargo no lo es por completo, por lo que podemos sospechar que algún fenómeno de adsorción sobre la gota de mercurio o alguna reacción química acoplada a la electrólisis en este potencial influyen también de manera importante sobre la velocidad de la reducción y por lo tanto sobre la corriente de la señal.

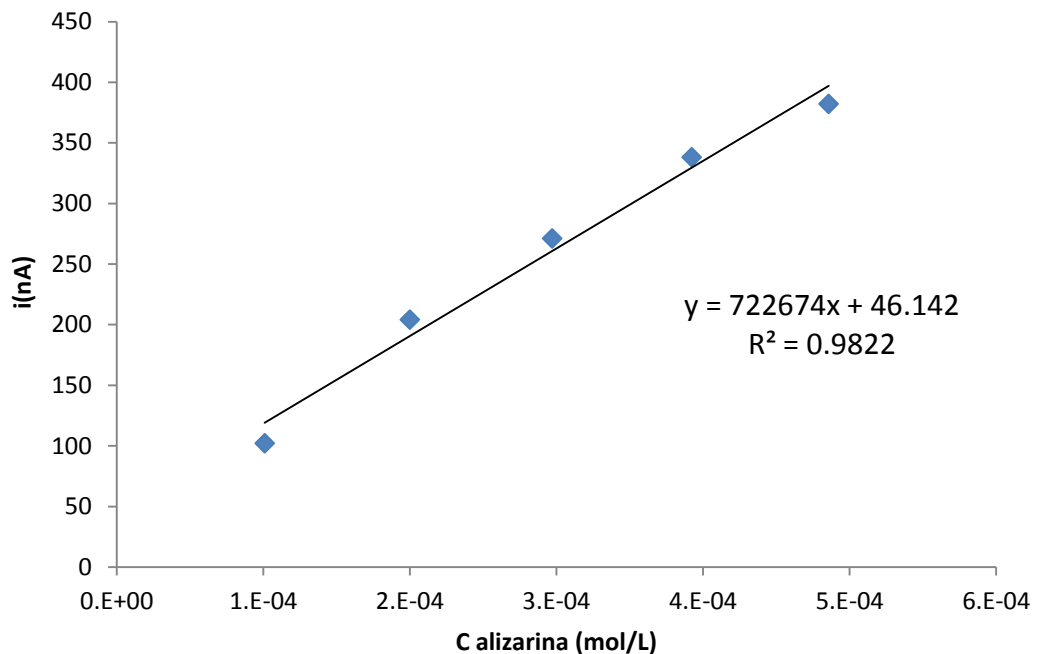


Figura 31. Curva de calibración para la señal en -0.909 V de alizarina en DMSO.

En la figura 32 se observa que la relación entre la corriente (i) y $C_{\text{alizarina}}$ para la señal en -1.33 V no es lineal, y además que a concentraciones menores a $2 \times 10^{-4}\text{ M}$ esta señal prácticamente no se detecta. Lo anterior es importante porque esta señal de reducción se encuentra presente en las curvas i/E tanto de purpurina como de alizarina, con la diferencia de que en la purpurina la señal a este mismo potencial se encuentra gobernada por la difusión y posee una intensidad de corriente significativamente mayor.

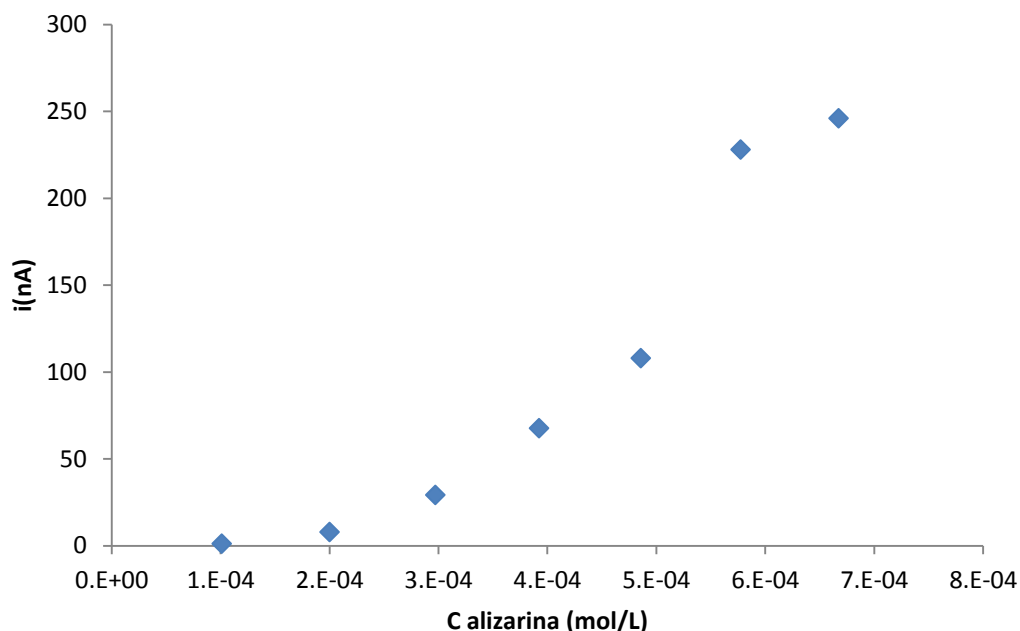


Figura 32. Curva de calibración para la señal en -1.33 V de alizarina en DMSO.

5.4.3 Voltamperometría cíclica

Con el objeto de encontrar algunas indicaciones acerca de otros factores que puedan influir sobre la forma de las curvas i/E además de $C_{\text{alizarina}}$, como adsorción al electrodo, reacciones químicas acopladas, velocidad de barrido, etc., se trazaron las curvas i/E por voltamperometría cíclica para alizarina 4.86×10^{-4} M a diferentes velocidades de barrido, utilizando la misma metodología que con la purpurina. En la figura 33 se muestran las curvas obtenidas a 25, 100 y 250 mV/s.

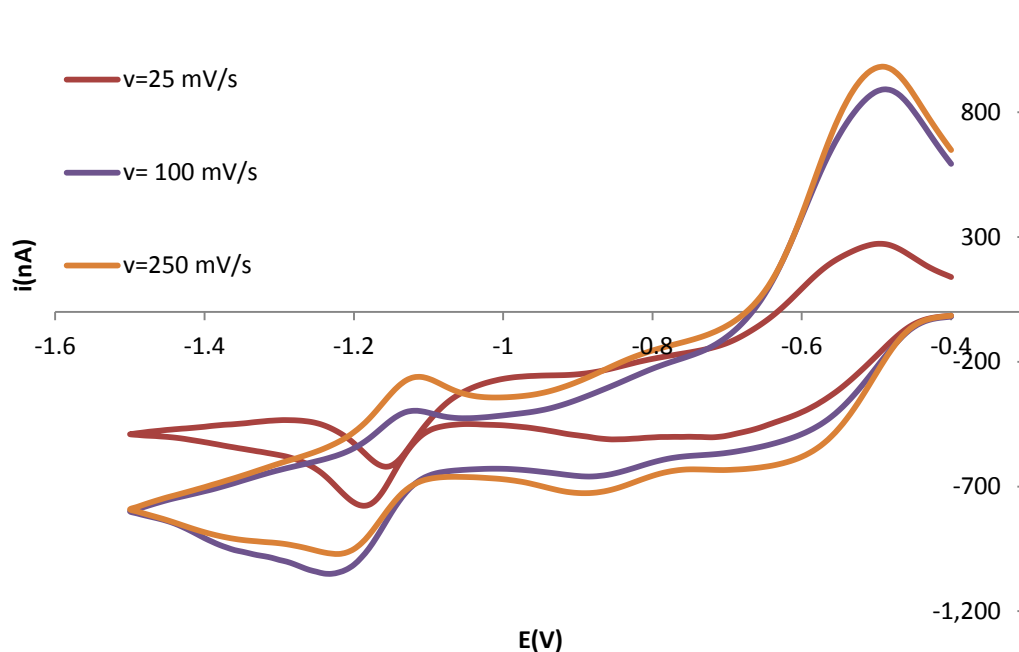


Figura 33. Curvas i/E en Voltamperometría Cíclica (VC) de alizarina en DMSO a diferentes velocidades de barrido, $C_{\text{alizarina}} = 4.86 \times 10^{-4}$ M.

En la figura anterior se observan 3 procesos electroquímicos que tienden a la reversibilidad a una alta velocidad de barrido. En particular resulta importante hacer notar que para la señal de reducción de la alizarina cercana a los -0.65 V la reversibilidad del sistema incrementa notablemente a mayores velocidades de barrido, pues se observa una relación i_p^{ox}/i_p^{red} que tiende a la unidad. Se observa lo mismo para la señal cercana a -1.3 V a partir de velocidades mayores a 100 mV/s, esto es interesante porque la purpurina posee una señal en el mismo potencial que, sin embargo, parece ser irreversible y además estar afectada por una reacción química acoplada, lo anterior constituye un criterio electroquímico adicional de diferenciación entre el comportamiento de ambos compuestos a pesar de sus estructuras químicas tan similares.

5.5 Valoraciones complejométricas

Los equilibrios de complejación de la purpurina con Ca(II), Al(III) y Mg(II) se estudiaron observando los cambios en las curvas i/E de la purpurina durante su valoración con alguno de estos cationes. Ninguno de ellos es electroactivo en el intervalo de potencial de trabajo, pues todos ellos se reducen a potenciales más negativos al de la barrera catódica, por lo que todo cambio en dichas curvas, dado que la concentración total de purpurina es constante, sólo puede deberse a la formación de complejos; cualitativamente esto se refleja de las siguientes formas:

- 1) Disminución en la corriente de pico (i_p) de la purpurina (se elige la señal de -1.38 V por ser proporcional a C_{Purp}).
- 2) Desplazamiento del potencial de pico (E_p), que es equivalente al potencial de media onda ($E_{1/2}$) en PC, de la misma señal y
- 3) Aparición de una nueva señal, lo que ocurre sólo si el complejo formado es soluble y electroactivo.

Adicionalmente, si se mide la variación en la corriente de pico (i_p) de la señal en -1.38 V en función de la relación de (moles de catión agregados)/ (moles purpurina totales) se obtienen curvas para las cuales la abscisa de cada punto de inflexión indica la relación molar o estequiometría del complejo formado.

5.5.1 Complejos de Purpurina con Ca(II)

Al agregar alícuotas de Ca(II) 0.0105 M a la purpurina, la señal en -1.38 V se desplaza hacia valores mayores de potencial, al mismo tiempo que varía la intensidad de corriente del pico (i_p), esto indica la formación de complejos entre estas dos especies (Figura 34).

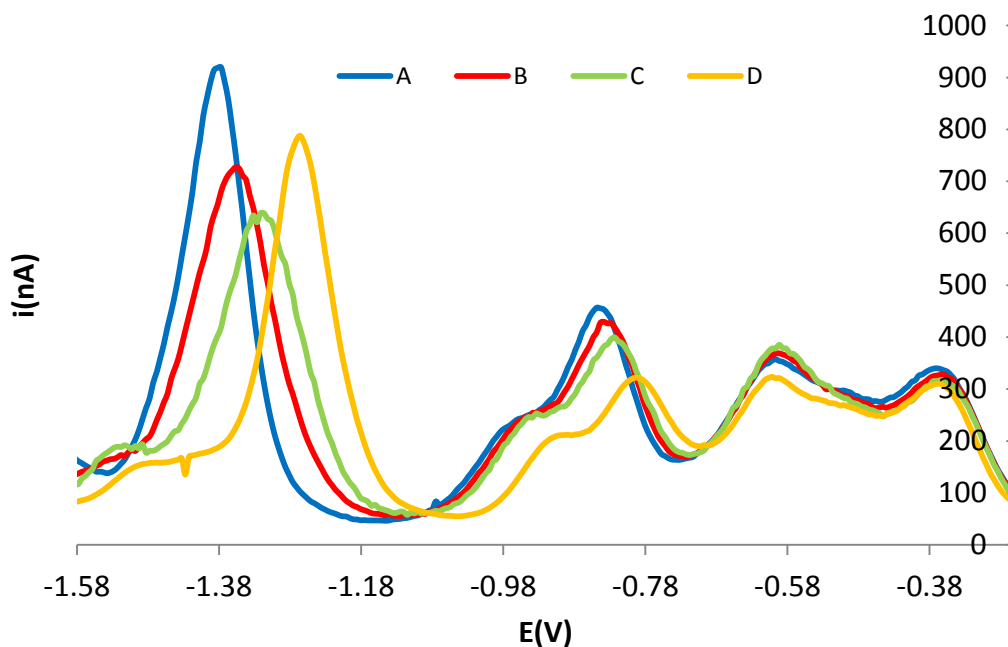
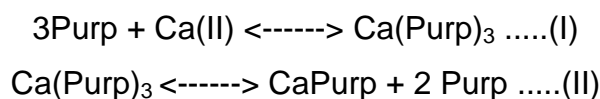


Figura 34. Curvas i/E en PDI de A) 1000 μ L de purpurina 0.0101 M, B) A+200 μ L, C) A+500 μ L y D) A+800 μ L de Ca(II) 0.01M

Al graficar la variación de la corriente i_p de la señal en -1.38 V en función de la relación molar Ca(II)/purpurina (Figura 35), se observa que el valor de i_p varía de tal forma que disminuye en el intervalo de 0-0.3 en relación molar Ca(II)/purpurina, incrementa de 0.3-1.0 y se mantiene constante desde 1.1 hasta valores mayores. Al calcular la intersección entre cada una de estas zonas rectas se obtienen valores de $x = 0.31$ ($x \approx 1/3$) y $x = 1.15$ ($x \approx 1$), que indican la formación de los complejos $\text{Ca}(\text{Purp})_3$ y CaPurp , que se forman en el orden indicado debido al exceso inicial de purpurina con respecto al Ca(II) durante la valoración. Lo anterior quiere decir que durante la valoración se llevan a cabo los siguientes equilibrios:



Los equilibrios planteados arriba explican el hecho de que, durante la valoración, la corriente i_p de la señal en -1.38 V disminuya en el intervalo de 0-0.3 en relación molar Ca(II)/purpurina, pues la concentración de purpurina en disolución

disminuye, así como también explican el aumento de i_p en el intervalo de 0.3-1.0 por el consiguiente aumento en la concentración de purpurina debido a la disociación del complejo antes formado. Ahora bien, el diagrama de la Figura 35 además de proporcionar la estequiometría de los complejos formados, nos puede ayudar a calcular sus respectivas constantes, pues recordemos que la corriente i_p a -1.38 V es proporcional a la $C_{\text{purpurina}}$, de ahí que cada punto en este diagrama nos indique también $C_{\text{purpurina}}$ y, de forma indirecta, ya que ahora se conoce la estequiometría de las reacciones que se llevan a cabo, las concentraciones de las demás especies; conociendo la concentración de todas las especies involucradas en el equilibrio, se procede simplemente a sustituir estos valores en la expresión de la constante de equilibrio y a calcular dicha constante. Siguiendo esta metodología, descrita con detalle en la sección 9.4 de los ANEXOS (pág. 81), se obtuvieron valores de 4.0 y 9.26 para $\log \beta$ de los complejos CaPurp y Ca(Purp)_3 respectivamente.

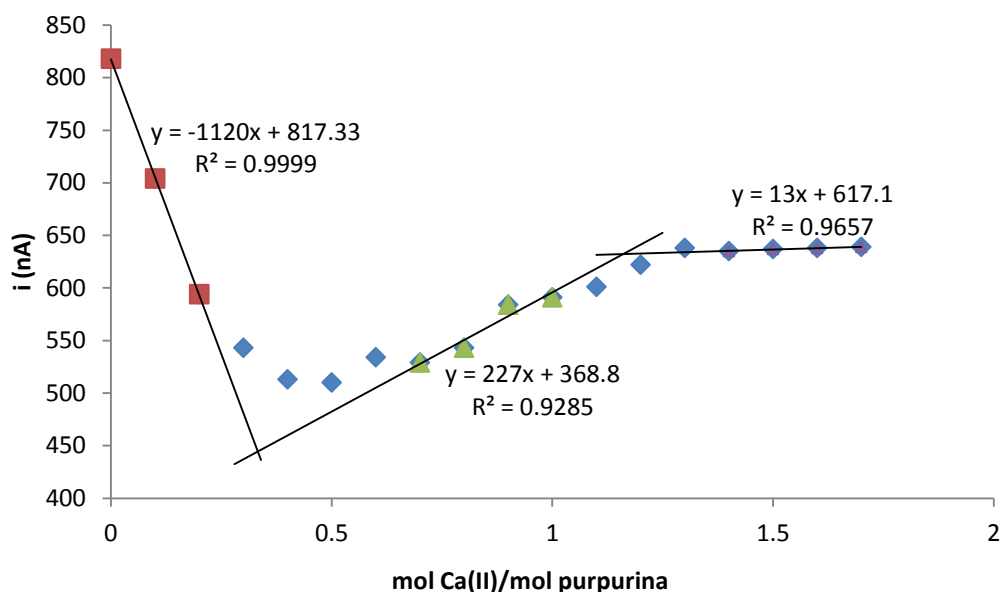


Figura 35. Curva de intensidad de corriente a -1.38 V vs relación molar Ca(II)/Purpurina .

5.5.2 Complejos de Purpurina con Mg(II)

Durante la valoración de la purpurina con Mg(II), la intensidad i_p de la señal en -1.38 V disminuye, lo cual se atribuye a la disminución de la purpurina en su forma libre en disolución, mientras que aparece una nueva señal en -1.2V, que se atribuye a la reducción del primer complejo formado (Figura 36).

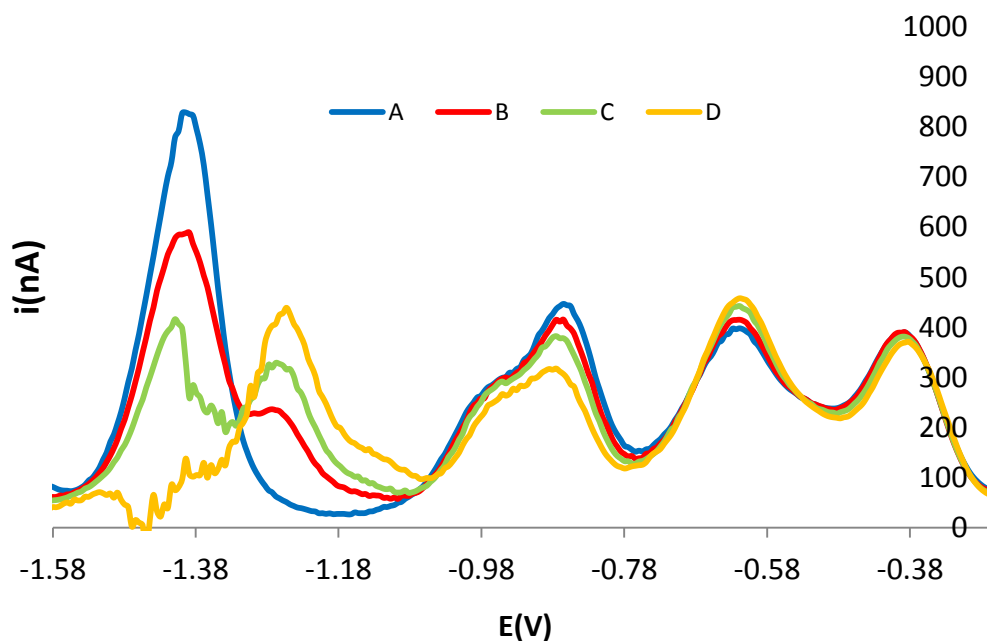


Figura 36. Curvas i/E en PDI de A) 1000 μ L de purpurina 0.01M, B) A+200 μ L, C) A+500 μ L y D) A+800 μ L de Mg(II) 0.01M

En el gráfico de i_p a -1.38 V vs relación molar Mg(II)/purpurina (Figura 37) se observan 3 zonas rectas. En la primera el valor de i_p disminuye rápidamente en el intervalo de 0-0.2, después sigue disminuyendo pero con una pendiente menos pronunciada en el intervalo de 0.2-1.0 y por último permanece prácticamente constante en el intervalo de 1-3. Al calcular la intersección entre las rectas anteriores se obtienen valores de $x= 0.2$ ($x \approx 1/3$) y $x= 0.95$ ($x \approx 1$), lo que indica la formación de los complejos $Mg(Purp)_3$ y $MgPurp$.

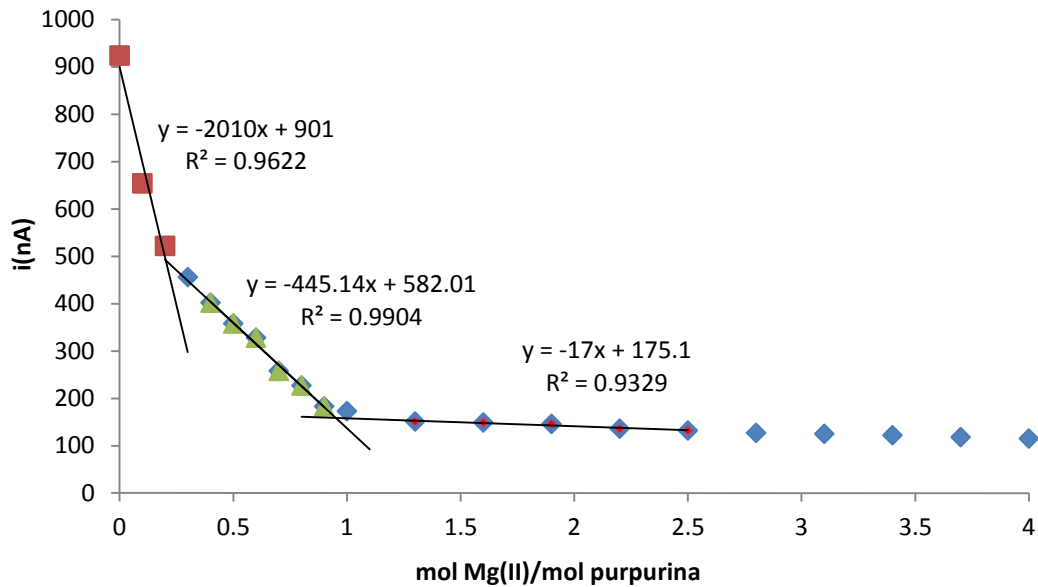


Figura 37. Curva de intensidad de corriente a -1.38 V vs relación molar Mg(II)/Purpurina

Cuando se grafica la variación de i_p a -1.2 V vs relación molar Mg(II)/purpurina (Figura 38) se observan también 3 zonas rectas. En la primera el valor de i_p aumenta en el intervalo de 0-0.3, después permanece constante en el intervalo de 0.3-1.0 y por último disminuye en el intervalo de 1-3. Mediante el cálculo de la intersección entre las rectas anteriores se obtienen valores de $x = 0.36$ ($x \approx 1/3$) y $x = 1.01$ ($x \approx 1$), lo cual confirma la formación de los complejos Mg(Purp)_3 y MgPurp .

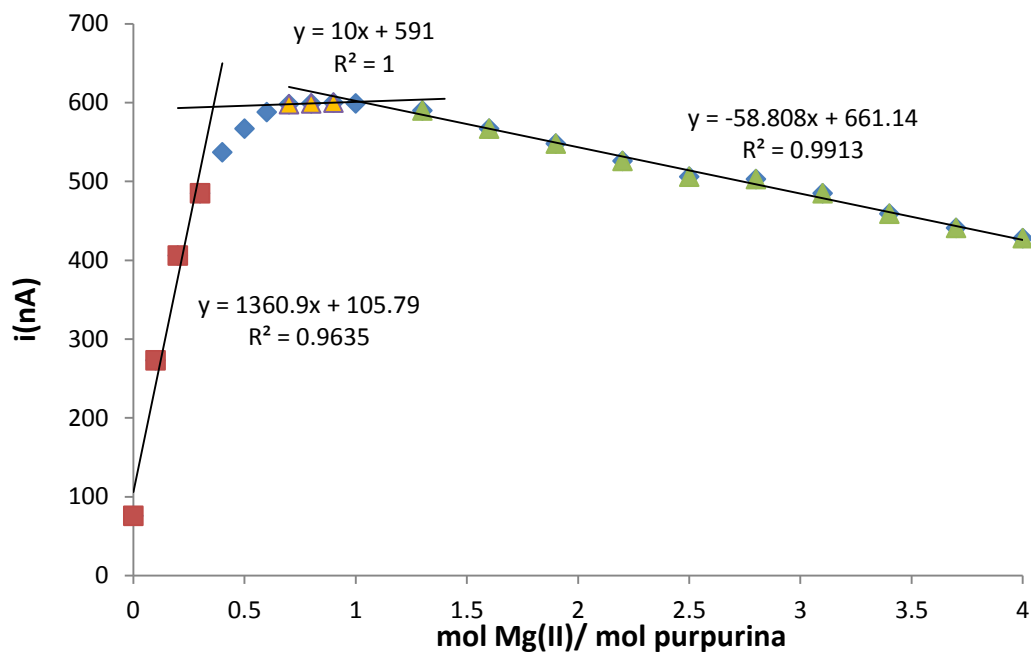
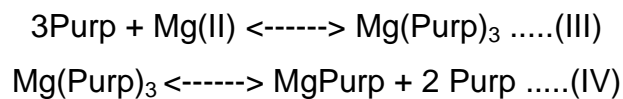


Figura 38. Curva de intensidad de corriente a -1.2 V vs relación molar Mg (II)/Purpurina

De la figura 37 se deduce que durante la valoración los equilibrios de formación de los complejos se llevan a cabo en el siguiente orden:



Se trata de un caso similar al del Ca(II), formándose primero el complejo Mg(Purp)_3 , que después se disocia para dar la especie MgPurp . Utilizando de la misma forma el diagrama de la figura 37 para hallar la $C_{\text{purpurina}}$ y de las demás especies involucradas, se determinaron valores de $\log \beta$ de 3.70 y 10.1 para las especies MgPurp y Mg(Purp)_3 respectivamente.

5.5.3 Complejos de Purpurina con Al(III)

Cuando la purpurina se valora con Al(III) (Figura 39), la señal en -1.38 V disminuye proporcionalmente hasta que llega a desaparecer por completo, esto indica la disminución de la concentración de purpurina en disolución, lo cual en este caso sólo se puede atribuir a la formación de complejos, los cuales al no aparecer otra señal se piensa que pueden ser insolubles o no electroactivos. Adicionalmente se observa un desplazamiento en la señal en -0.96 V.

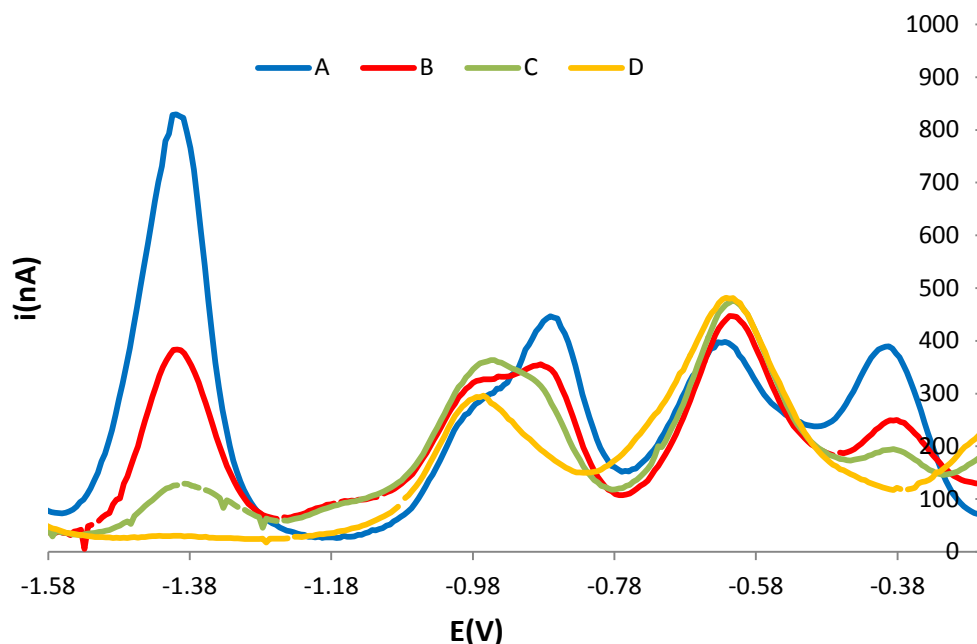
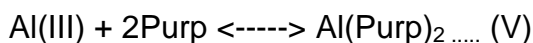


Figura 39. Curvas i/E en PDI de A) 1000 μ L de purpurina 0.01M, B) A+250 μ L, C) A+500 μ L y D) A+1000 μ L de Al(III) 0.01M

Al realizar el correspondiente estudio de variación de la corriente i_p en -1.38 V en función de la relación molar Al(III)/purpurina, como se muestra en la figura 40, se obtiene un gráfico donde se observan 2 zonas rectas, cuyo punto de intersección se encuentra en $x=0.5$ ($x=1/2$), lo cual indica la formación del complejo Al(Purp)_2 . De lo anterior se concluye que el equilibrio que se lleva a cabo durante la valoración es el siguiente:



Este equilibrio explica la estequiometría del complejo formado así como la disminución de la corriente i_p durante la valoración, debida al consumo de purpurina y disminución de su concentración. Con la información de la figura 40 en el punto de equivalencia ($x=0.5$) se calcularon $C_{\text{purpurina}}$ y las concentraciones de las demás especies al equilibrio, que permitieron determinar el valor de $\log \beta$ de 8.79 para la especie $\text{Al}(\text{Purp})_2$.

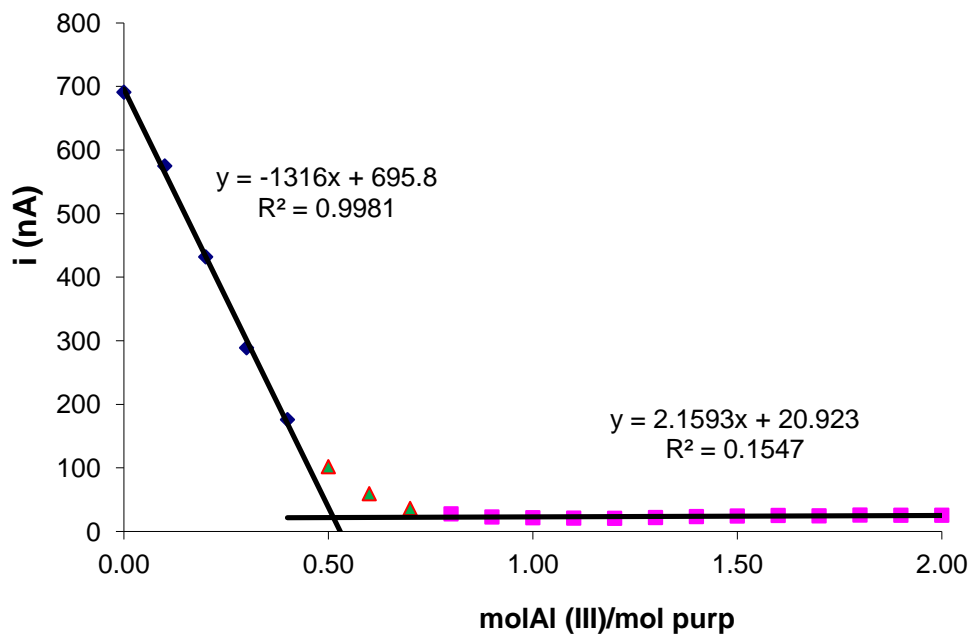


Figura 40. Curva de intensidad de corriente a -1.38 V vs relación molar Al (III)/Purpurina

5.5.4 Complejos de Alizarina con Al(III)

Durante la valoración de alizarina con Al(III) (Figura 41), todas las señales de las curvas de i/E de la alizarina se ven alteradas, especialmente en los valores de i_p . La señal en -1.38 V disminuye hasta que llega a desaparecer por completo, lo cual indica la disminución de la concentración de alizarina libre en disolución y a su vez la formación de complejos entre ambas especies.

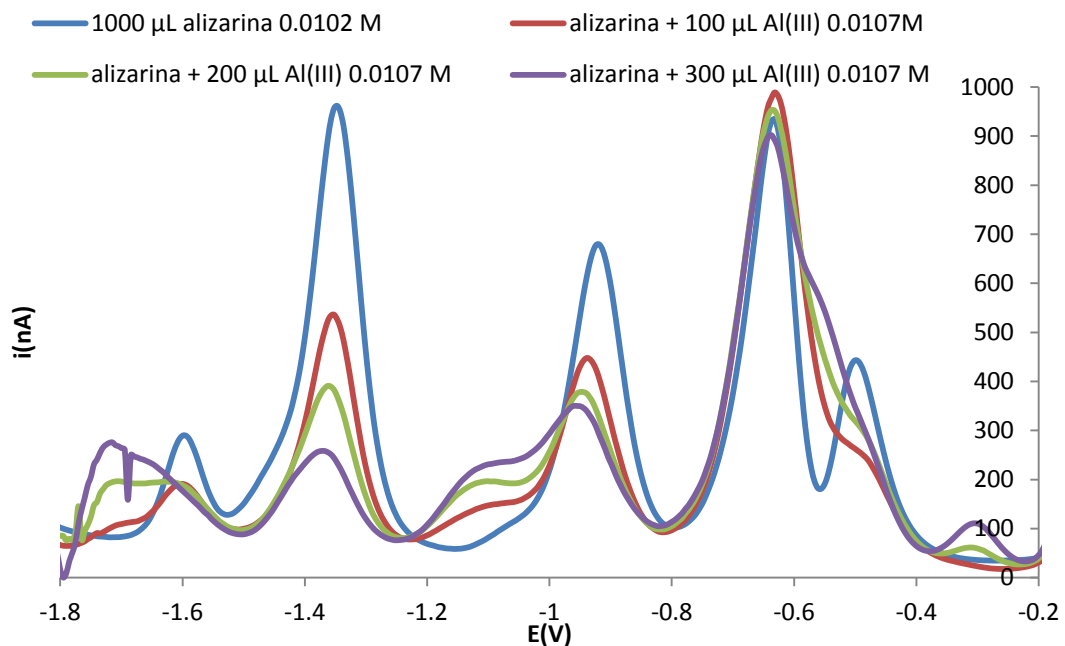
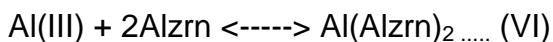


Figura 41. Curvas i/E en polarografía diferencial de impulsos (PDI) para alizarina en presencia de diferentes cantidades de Al(III) añadidas.

El gráfico de la variación de la corriente i_p en -1.38 V en función de la relación molar Al(III)/alizarina, figura 42, muestra 2 zonas rectas, cuyo punto de intersección se encuentra en $x=0.44$ ($x \approx 1/2$), lo cual indica la formación del complejo $Al(Alzrn)_2$. Esto quiere decir que el equilibrio que ocurre es:



De la misma forma en que se realizó con los demás complejos, en este caso se utilizó la información contenida en el diagrama de la figura 42 para determinar $C_{\text{alizarina}}$ y la concentración al equilibrio de las demás especies involucradas en la formación del complejo, no obstante bajo la suposición de que a la concentración inicial de alizarina con que se trabajó (9.27×10^{-4} M) la señal en -1.38 V sí es proporcional a $C_{\text{alizarina}}$, ya que como se vió en un apartado anterior, esto no se

cumple a concentraciones menores a 2×10^{-4} M de alizarina. De esta manera se obtuvo un valor de $\log \beta$ de 9.32 para el complejo $\text{Al}(\text{Alzrn})_2$.

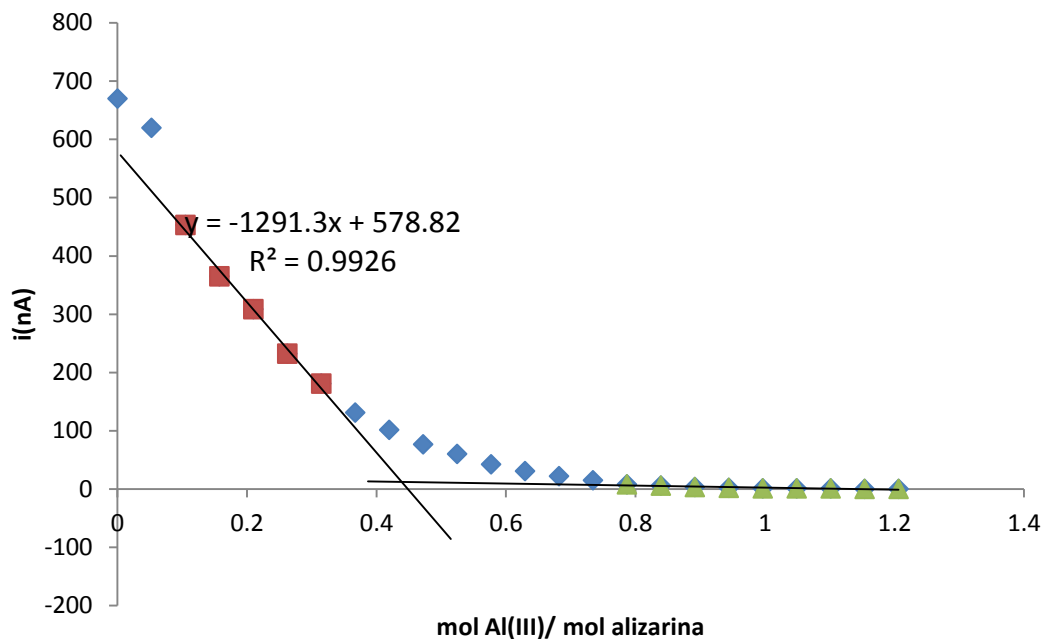


Figura 42. Curva de intensidad de corriente a -1.38 V vs relación molar Al (III)/Alizarina

El resultado del análisis de todas las curvas presentadas se puede resumir en la siguiente tabla:

Tabla 5. Resultados de las valoraciones complejométricas.

Catión	Complejos formados	$\text{Log}\beta_i$
Ca^{2+}	CaPurp , $\text{Ca}(\text{Purp})_3$	4.0, 9.26
Mg^{2+}	MgPurp , $\text{Mg}(\text{Purp})_3$	3.70, 10.1
Al^{3+}	$\text{Al}(\text{Purp})_2$, $\text{Al}(\text{Alzrn})_2$	8.79, 9.32

Hasta aquí cabe destacar que Calcio y Magnesio forman complejos del tipo MPurp y $\text{M}(\text{Purp})_3$, donde $\text{M}=\text{Ca}(\text{II})$ y $\text{Mg}(\text{II})$ y que el $\text{Al}(\text{III})$ forma el mismo complejo de tipo AlL_2 , donde $\text{L}=\text{purpurina}$ o alizarina. Lo último concuerda con la información de la literatura^[16], donde se indica que el complejo de alizarina con $\text{Al}(\text{III})$ posee la fórmula $\text{Al}(\text{Alzrn})_2$.

Con las constantes de formación global (β) obtenidas se calcularon los siguientes diagramas de abundancia relativa de especies, con los cuales se pretende tener una descripción más gráfica de los equilibrios en disolución para las reacciones de formación de complejos antes descritas:

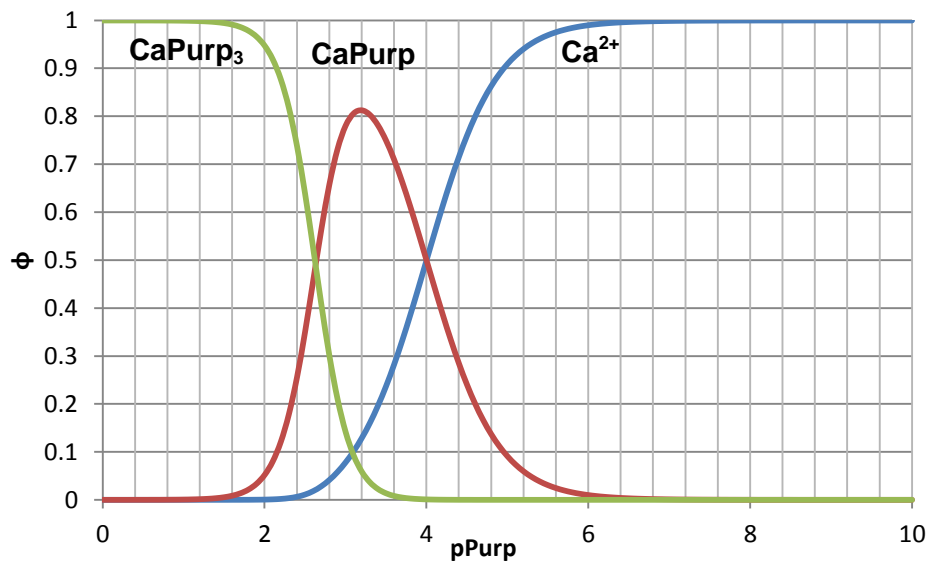


Figura 43. Diagrama de abundancia relativa de especies para los complejos de Ca(II) con purpurina

En la figura 43 se observa que a una concentración de purpurina menor a 1×10^{-6} M ($pPurp > 6$) todo el Ca(II) se encuentra bajo su forma libre, es decir Ca^{2+} , también se tiene que en un intervalo de concentraciones de 1×10^{-4} - 2.51×10^{-3} M ($2.6 < pPurp < 4$) predomina la especie $CaPurp$, cuya abundancia relativa máxima alcanza el 81% cuando la correspondiente concentración de purpurina libre es de 7.94×10^{-4} M ($pPurp = 3.1$), mientras que la especie $CaPurp_3$ predomina a concentraciones de purpurina mayores a 2.51×10^{-3} M ($pPurp < 2.6$).

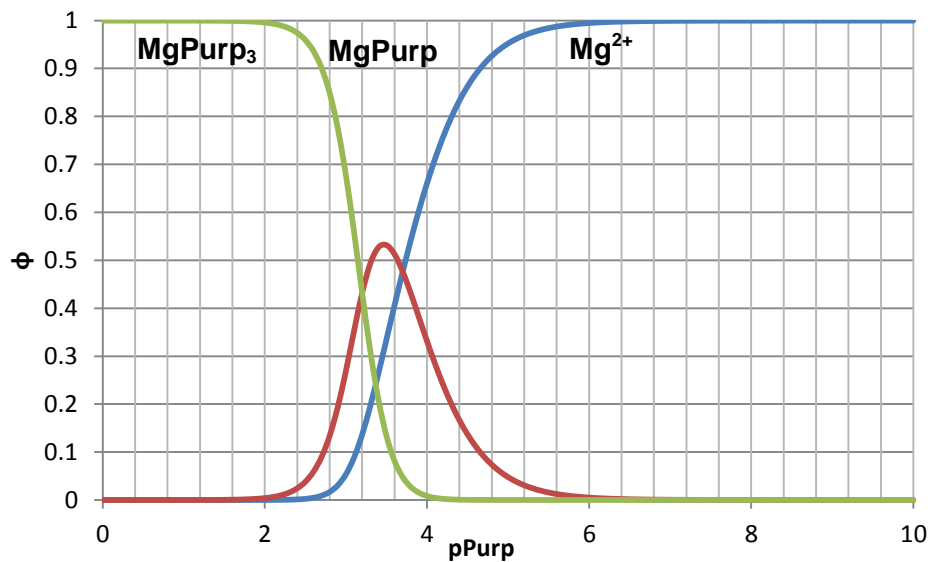


Figura 44 Diagrama de abundancia relativa de especies para los complejos de Mg(II) con purpurina

Empleando un razonamiento similar se identifican 3 zonas en la figura 44, que indican la predominancia de la especie Mg^{2+} a concentraciones de purpurina menores a 2.51×10^{-4} M ($pPurp > 3.6$), la predominancia de la especie $MgPurp$ a una concentración de purpurina en el intervalo 2.51×10^{-4} - 6.31×10^{-4} M ($3.2 < pPurp < 3.6$) y la predominancia de la especie $MgPurp_3$ a concentraciones de purpurina mayores a 6.31×10^{-4} M ($pPurp < 3.2$). Es importante resaltar el hecho de que el complejo $MgPurp$ posee un intervalo de predominancia muy pequeño y su abundancia relativa alcanza un valor máximo de sólo el 53.1% (a $pPurp = 3.5$).

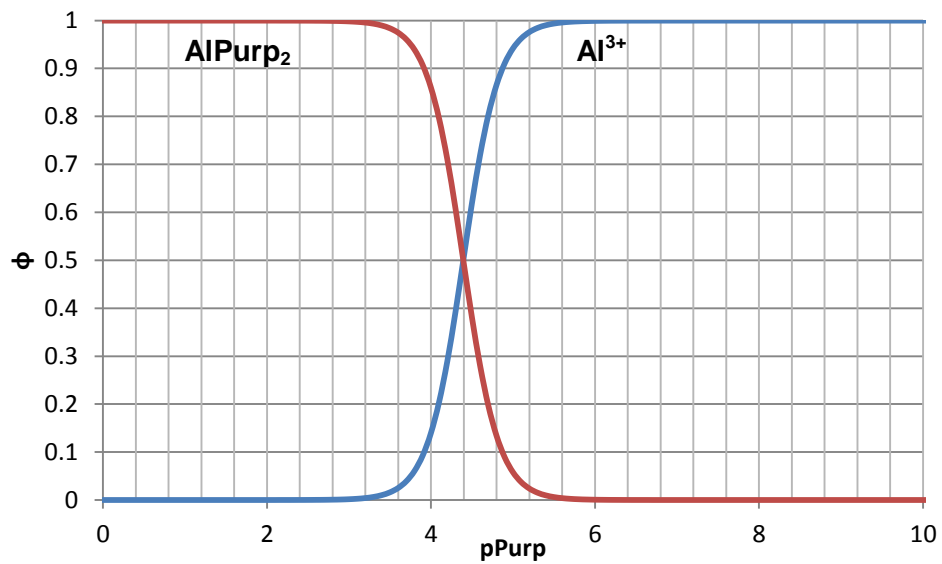


Figura 45. Diagrama de abundancia relativa de especies para los complejos de Al(III) con purpurina

En la figura 45 se observan dos zonas divididas por un punto, el cual marca una abundancia relativa del 50% para las dos especies presentes a una concentración de purpurina de 3.98×10^{-5} M ($pPurp = 4.4$), a concentraciones de purpurina menores ($pPurp > 4.4$) predomina el Al(III) en su forma libre, es decir como Al^{3+} , y a concentraciones mayores ($pPurp < 4.4$) predomina la forma complejada $AlPurp_2$.

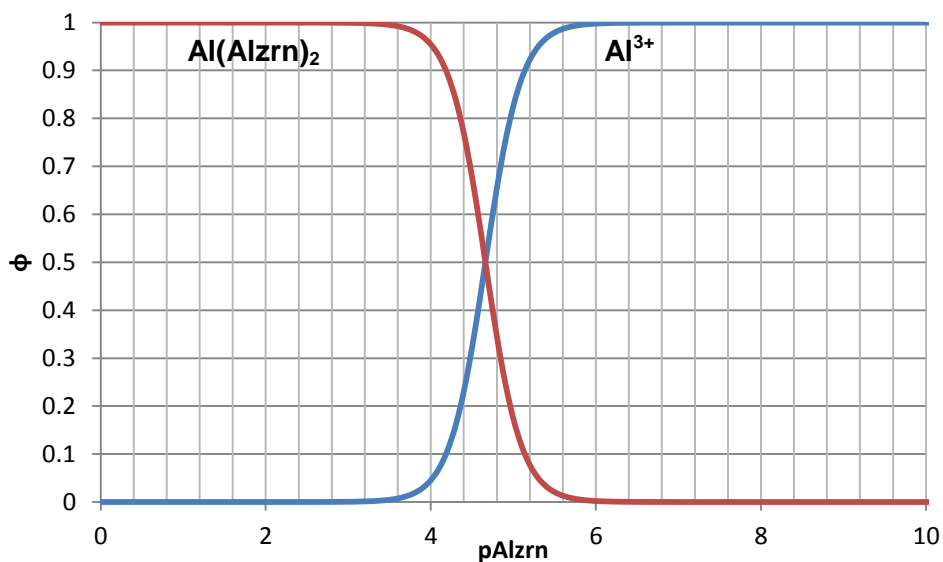


Figura 46. Diagrama de abundancia relativa de especies para los complejos de Al(III) con alizarina

En la figura 46 se observa un caso un tanto similar al anterior, de tal forma que a concentraciones de alizarina mayores a 2.51×10^{-5} M ($pAlzrn < 4.6$) se tiene como especie predominante a $Al(Alzrn)_2$, mientras que a valores menores ($pAlzrn > 4.6$) quien predomina es la forma libre del aluminio, o sea Al^{3+} .

5.6 Cuantificación

5.6.1 Mezclas de reactivos

El conocimiento de las curvas i/E de purpurina y alizarina por separado debe permitirnos saber si es posible y de qué manera la determinación de ambos compuestos en una misma muestra. En la figura 47 se muestran las curvas i/E para purpurina y alizarina. En ella se observa que las respectivas señales de difusión para cada compuesto poseen potenciales de pico (E_p) que se encuentran muy separados, lo cual representa una ventaja pues quiere decir que en primera instancia la cuantificación de ambos compuestos se puede realizar de manera independiente, no obstante la alizarina presenta una señal, que por no ser de difusión, contribuye de forma no predecible sobre la magnitud de la señal en -1.34 V, esto quiere decir que en una mezcla equimolar de purpurina y alizarina, la última representaría una interferencia para la medición directa de purpurina a partir de su señal de difusión en -1.33 V.

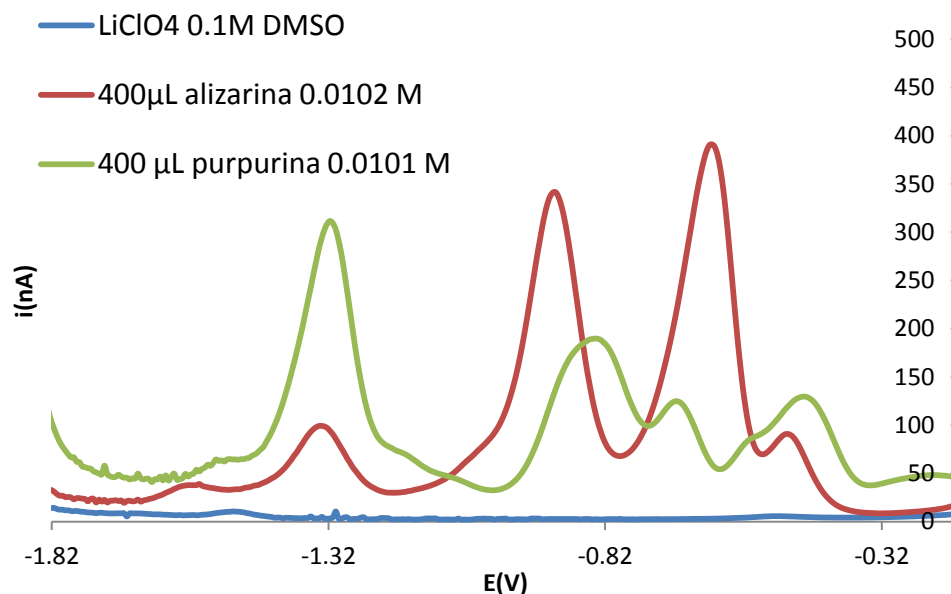


Figura 47. Curvas i/E en polarografía diferencial de impulsos (PDI) de alizarina y purpurina en DMSO.

5.6.2 Análisis de un extracto de *Rubia Cordifolia*

Como se vio en la sección anterior, la forma de cuantificar purpurina y alizarina en una misma muestra dependerá de las concentraciones de ambas, siendo siempre posible la determinación directa de alizarina, mientras que para la purpurina su determinación podrá ser directa sólo a concentraciones bajas de alizarina (menores 2×10^{-4} M, donde la magnitud de su señal en -1.34 V es despreciable) y más complicada para concentraciones de alizarina mayores, sin embargo, lo anterior dependerá principalmente de la muestra y las concentraciones de trabajo. En la figura 48 se muestran las curvas i/E para purpurina 3.88×10^{-4} M, alizarina 3.92×10^{-4} M y $1600 \mu\text{L}$ del extracto utilizando la técnica de PDI.

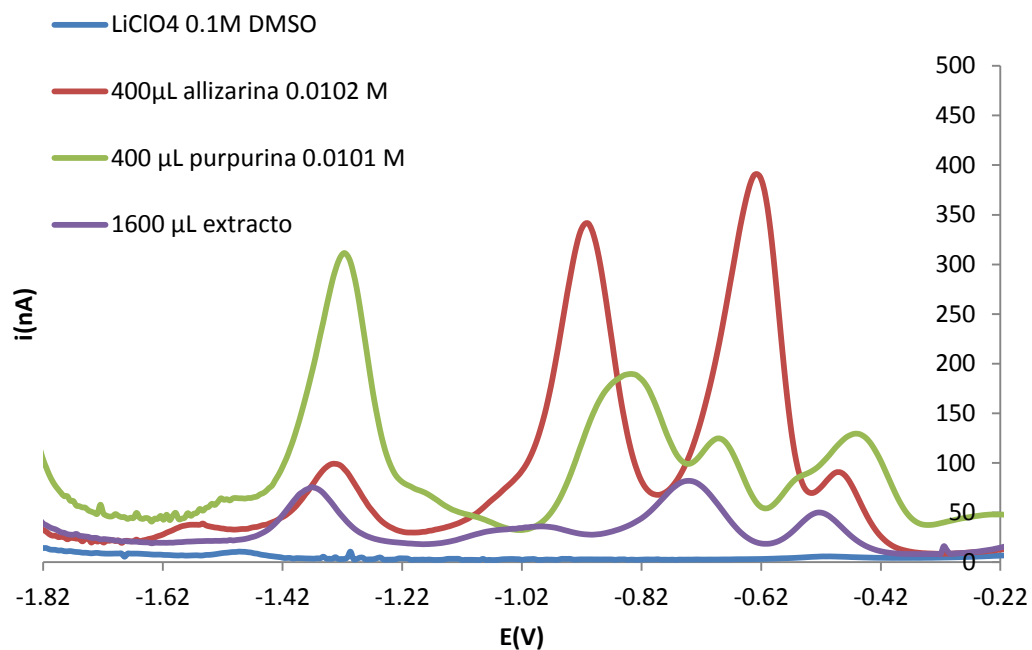


Figura 48. Curvas i/E en polarografía diferencial de impulsos (PDI) de alizarina, purpurina y un extracto de *Rubia cordifolia* en DMSO.

Es importante notar que el extracto presenta 4 señales de reducción, de las cuales las que se encuentran en -1.35 y -0.51 V es muy probable que correspondan a las señales de reducción características en la purpurina y alizarina

respectivamente, que bajo las condiciones de este experimento no aparecen en los mismos valores de potencial, pues la presencia del extracto modifica sustancialmente el medio de estudio. También se puede decir a partir de la curva anterior que la concentración de purpurina y alizarina en el extracto debe ser menor a 1.9×10^{-4} M, pues las señales presentes en el extracto tienen una magnitud menor a la mitad de la magnitud observada para la señal de purpurina 3.88×10^{-4} M.

Para comprobar dicha hipótesis, a la celda con electrolito soporte y 1600 μ L de disolución del extracto de *Rubia cordifolia* se le adicionaron alícuotas de 30 μ L de purpurina 0.0101 M hasta un volumen total de 90 μ L, posteriormente se repitió esta operación hasta agregar un volumen total de 90 μ L de alizarina 0.0102 M. En la figura 49 se muestran las curvas i/E correspondientes al extracto y a los volúmenes totales de purpurina y alizarina adicionados.

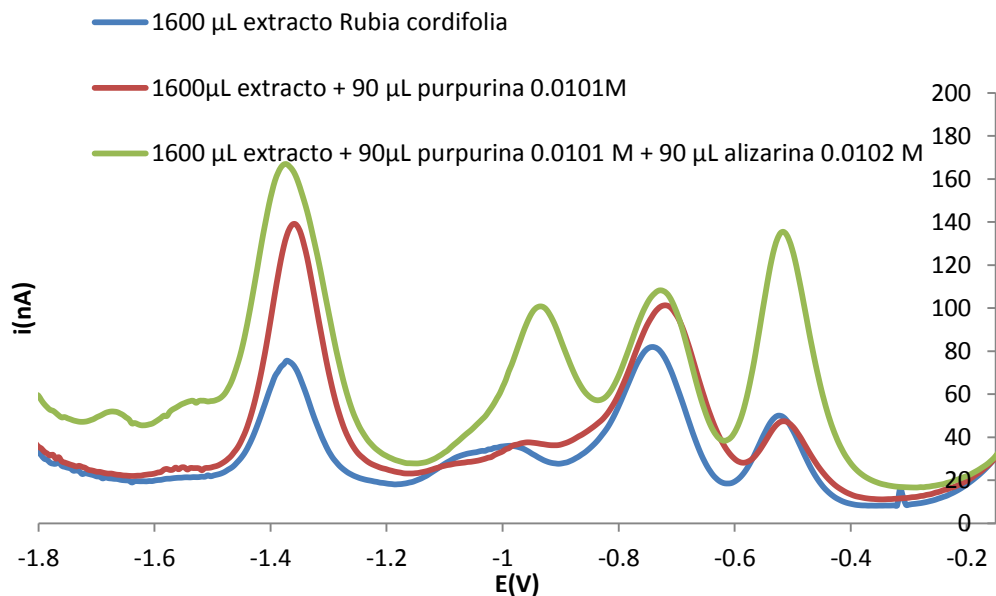


Figura 49. Curvas i/E en polarografía diferencial de impulsos (PDI) de un extracto de *Rubia cordifolia* con adiciones de purpurina y alizarina en DMSO.

Con la adición de purpurina al extracto las señales en -1.35 y -0.75 V se incrementan, mientras que las señales en -0.96 y -0.52 V permanecen prácticamente inalteradas, de esta manera comprobamos que el extracto posee purpurina desde un inicio, además de otras especies que dan origen a las señales en -0.96 y -0.52 V. Al agregar alizarina a la celda, se observa que todas las señales aumentan, menos la que se encuentra en -0.72 V, y que permanece igual. Hasta aquí resulta sumamente importante resaltar el hecho de que la señal en -0.52 V no se ve afectada por la adición de purpurina, mientras que su valor de i_p aumenta de manera muy significativa con la adición de alizarina, lo cual quiere decir que esta señal corresponde a la alizarina presente en el extracto. Siendo así, al relacionar los valores de i_p para la señal en -0.52 V antes y después del extracto, se determina una concentración de alizarina en el extracto de 1.43×10^{-4} M, lo que corresponde a un porcentaje en masa de 1.33% de alizarina en el extracto seco. Aunque pequeña, la concentración de alizarina en la celda después de agregar la alícuota del extracto, se puede determinar con precisión pues rebasa el valor del límite de detección (LD). Según la figura 32 (pág. 46), a la concentración de alizarina presente en la celda con extracto agregado (1.98×10^{-5} M), la señal en -1.33 V para la alizarina no se detecta, por lo que a este potencial la corriente i_p en el extracto se puede atribuir completamente a la purpurina presente en él. De la misma forma, si relacionamos los valores de i_p para las señales en -1.35 V antes y después de la adición de purpurina, se determina una concentración de purpurina en el extracto de 1.81×10^{-4} M, el cual es un valor confiable, pues es superior al límite de detección para este compuesto utilizando PDI, y que corresponde a un porcentaje en masa de 1.79% del extracto seco. Por lo tanto, el porcentaje total de colorante en el extracto seco, calculado como la suma de los respectivos porcentajes en masa de alizarina y purpurina, corresponde a 3.12%.

6. CONCLUSIONES

Los experimentos realizados en este trabajo permitieron determinar parámetros electroquímicos referentes a la electrólisis de la purpurina y alizarina en el electrodo de gotas de mercurio (EGM). Tales parámetros son, por ejemplo, la presencia de 4 señales de reducción para la purpurina, ubicadas en -382, -609, -850 y -1330 mV. De todas ellas la última depende directamente de la concentración de purpurina en disolución, y presenta un límite de detección de 1.09×10^{-5} M en polarografía diferencial de impulsos. El análisis logarítmico y del gráfico de Tafel para esta misma señal arrojó valores de $\alpha n = 0.701$ e $i_0 = 3.63 \times 10^{-9}$ A (considerando $n = 2$ electrones intercambiados y $C_{\text{purp}} = 3.88 \times 10^{-4}$ M), ambos valores característicos para un sistema electroquímico de tipo irreversible.

Por su parte, la alizarina presenta 5 señales de reducción situadas en -511, -652, -924, -1330 y -1560 mV. De ellas la señal en -652 mV es directamente proporcional a la concentración de alizarina en disolución, con un límite de detección de 1.05×10^{-5} M en PDI. El análisis del gráfico de Tafel para esta señal permitió determinar valores de $\alpha n = 0.271$ e $i_0 = 9.15 \times 10^{-8}$ A (considerando $n = 2$ electrones intercambiados y $C_{\text{alzn}} = 5.77 \times 10^{-4}$ M), los cuales son valores característicos para un sistema electroquímico de tipo irreversible.

Las señales de reducción de purpurina y alizarina controladas por difusión convectiva, poseen valores de $E_{1/2}$ muy alejados entre sí, lo cual puede hacernos pensar que por lo tanto dichas señales se deben a la reducción de grupos funcionales diferentes para cada compuesto; sin embargo, la única diferencia estructural entre ambos compuestos es la presencia de un grupo hidroxilo (-OH) adicional en la purpurina, esto quiere decir que muy probablemente las señales de reducción corresponden al mismo grupo funcional, en particular la quinona, y que

la diferencia en los potenciales de reducción se debe a efectos estéricos o inductivos presentes sólo en la purpurina.

A través de las valoraciones complejométricas efectuadas se determinó la estequiometría y el valor de las constantes de formación globales de los complejos de purpurina con Ca(II), Mg(II) y Al(III), así como entre alizarina y Al(III). De esta forma se encontró que los complejos de purpurina con Ca(II) y Mg(II) poseen la misma estequiometría y estabilidades similares, lo que también ocurre entre los complejos de Al(III) con purpurina y alizarina.

Se aprovecharon los bajos límites de detección en PDI de las señales de electrólisis gobernadas por el fenómeno de difusión tanto en alizarina como en purpurina, para realizar con un mínimo tratamiento de muestra la determinación del contenido de ambas sustancias en un extracto de origen natural, obtenido a partir de raíces de la planta *Rubia cordifolia*. Dicho análisis indica que el contenido de alizarina y purpurina en el extracto analizado es de 1.33 y 1.79 % en masa respectivamente, es decir, un 3.12 % de materia colorante. Lo anterior indica que la muestra analizada es un producto natural de alta calidad, pues en la literatura se menciona una media del 3 % como máximo.

7. PERSPECTIVAS

- Para completar este estudio, se propone realizar experimentos de coulombimetría directa a potencial constante, con lo cual se podrán determinar los valores de n o número de electrones involucrados en las múltiples reducciones electroquímicas observadas tanto para la purpurina como para la alizarina. La determinación de n permitirá conocer de inmediato el valor de K_D (coeficiente de difusión) a partir de los datos con los que ya se cuenta.
- Realizar un estudio más profundo de las curvas de i/E por voltamperometría cíclica para determinar el mecanismo de las reacciones electroquímicas en el EGM para purpurina y alizarina, en particular se requiere trabajar a velocidades de barrido más altas y trazar una mayor número de curvas.
- Aprovechar el conocimiento obtenido con este trabajo, acerca de la determinación electroquímica de purpurina y alizarina, así como de los equilibrios de complejación (estequiometrias y valores de $\log\beta_i$) de ambos compuestos con Ca(II) , Mg(II) y Al(III) , para estudiar la posible determinación indirecta de alguno de los cationes anteriores, que son no electroactivos, por técnicas electroquímicas de impulsos o de redisolución adsorbtiva.
- Sintetizar los complejos estudiados en este trabajo, con el objeto de caracterizarlos por métodos espectroscópicos y confirmar de esta manera su estequiometría; además se pretenden determinar algunas de sus propiedades físicas, como color y estabilidad, y encontrar así sus posibles aplicaciones.

8. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Marmion Daniel. *Handbook of U.S. colorants*. Ed. Wiley. 3a. edición. Estados Unidos 1991. pp. 3-4.
- [2] Zollinger Heinrich. *Color chemistry: Syntheses, properties and applications of organic dyes and pigments*. Ed. Wiley-VCH. 3ra edición. Suiza 2003. pp. 1-4.
- [3] Ashis Kumar y Priti Agarwal. *Application of natural dyes on textiles*. Indian Journal of Fibre & Textile Research. Vol. 34, 2009, pp-384-399.
- [4] Thomas Bechtold, Rita Mussak. *Handbook of natural colorants*. Wiley 2009.
- [5] *The Merck Index*. Ed. Merck & Co. Inc. 11a. edición. Estados Unidos 1989. pp. 42-43.
- [6] *The Merck Index*. Ed. Merck & Co. Inc. 11a. edición. Estados Unidos 1989. pp. 1264.
- [7] *The history and production of Rose Madder and alizarin pigments*. En línea, consultado el 19 de septiembre de 2013: <http://www.winsornewton.com/resource-centre/product-articles/rose-madder-and-alizarin>
- [8] Cardon, Dominique y Du Chatenet, Gaëtan. *Guide des Teintures Naturelles*. Ed. Delachaux et Niestlé. 1era. edición. Paris 1990. pp. 33-44.
- [9] Fieser, Louis. *The discovery of synthetic alizarin*. *J. Chem. Educ.* 1930, 7(11), pp. 2609-2633.
- [10] R. Siva. *Status of natural dyes and dye yielding plants in India*. *Current Science*, Vol. 92 , No. 7, 2007, pp. 916-925.

- [¹¹] H. Goodarzian y E. Ekrami. *Extraction of dye from madder plant (Rubia tinctorium L.) and dyeing of wool*. World Applied Sciences Journal 9(4): 434-436, 2010.
- [¹²] C Miliani, A Romani, G Favaro. *A spectrophotometric and fluorimetric study of some anthraquinoid and indigoid colorants used in artistic paintings*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. Vol. 54, No. 4 (1998), pp. 581-588.
- [¹³] Zvi. C. Koren. *Methods of dye analysis used at Shenkar College Edelstein Center in Israel*. Textile Research Associates. York 1993. pp. 24-33.
- [¹⁴] A. Doménech-Carbó · M. T. Doménech-Carbó, M. C. Saurí-Peris, J. V. Gimeno-Adelantado. *Electrochemical identification of anthraquinone-based dyes in solid microsamples by square wave voltammetry using graphite/polyester composite electrodes*. Anal. Bioanal. Chem. (2003) 375 : 1169–1175.
- [¹⁵] Reyes Salas Octavio, Juárez-Espino Marcos, Manzanilla-Cano José. *Titrimetric and Polarographic Determination of Carminic Acid and its Quantification in Cochineal (Dactylopius coccus) Extracts*. J. Mex. Chem. Soc. 2011, 55(2), 89-93.
- [¹⁶] E.G. Kiel, P.M. Heertjes. *Metal complexes of alizarin I- The structure of the Calcium-Aluminium lake of alizarin*. Journal of the Society of Dyers and Colourists. Vol. 79, No. 1 (1963), pp. 21-27.
- [¹⁷] Harris, D.C. *Análisis químico cuantitativo*. Ed. Reverté. 2da. edición. España 2001. pp. 461-475.
- [¹⁸] Ramírez, B. (2009) *Apuntes de Electroquímica II*. En línea, consultado el 18 de septiembre de 2013: [http://www.biblioteca.upibi.ipn.mx/Archivos/Material%20Didactico/Apuntes%20de%20Electroqu%C3%ADmica%20II%20\(17nov09\).pdf](http://www.biblioteca.upibi.ipn.mx/Archivos/Material%20Didactico/Apuntes%20de%20Electroqu%C3%ADmica%20II%20(17nov09).pdf)

[19] Gonzalez, C. *Análisis aplicado a la Ingeniería Química. Métodos Voltamperométricos y Polarografía*. En línea, consultado el 5 de septiembre de 2013: http://ocw.usal.es/ciencias-experimentales/analisis-aplicado-a-la-ingenieria-quimica/contenidos/course_files/Tema_9.pdf

[20] Skoog, D., Holler, J. *Principios de análisis instrumental*. Ed. Cengage Learning. 6a. edición. México 2008. pp. 716-753.

[21] Charlot, G. *Química analítica General Vol. II*. Ed. Toray Masson. 1era. edición. España 1975. pp. 51 - 132.

9. ANEXOS

9.1 Estudio logarítmico de las curvas i/E para la obtención del potencial de media onda ($E_{1/2}$)

Las ondas o señales polarográficas de reducción tienen un comportamiento expresado por la siguiente ecuación (a 25 °C):

$$E = E_{1/2} + \frac{0.059}{n} * \log \frac{(i - i_d)}{-i}$$

Por lo tanto, una gráfica de potencial (E) contra $\log (i-i_d/-i)$ es una línea recta cuya ordenada al origen corresponde al potencial de media onda ($E_{1/2}$) y la pendiente involucra el número de electrones intercambiados (n). El potencial de media onda es característico para cada sistema redox en un medio determinado, es independiente de la concentración de la especie electroactiva y además corresponde al potencial en que la corriente es igual a la mitad de la corriente límite ($i=i_d/2$).

Para llevar a cabo este estudio se utilizaron los datos de las curvas i/E obtenidas por polarografía clásica (PC) en el medio de LiClO_4 0.1 M en DMSO a una concentración de 1.23×10^{-3} M de purpurina y 5.77×10^{-4} M de alizarina en la celda. Los valores para calcular el $\log (i-i_d/-i)$ se tomaron de la zona logarítmica de la curva. Como ejemplo, se muestra el procedimiento para el estudio logarítmico de la purpurina, a partir del cual se obtuvieron los datos de la siguiente tabla, representados en la figura 20:

Tabla 6. Valores experimentales para el análisis logarítmico.

$ i _{\text{corregida}} \text{ (nA)}^*$	$\log[(i-i_d)/-i]$	E(V)
654.3	-1.086	-1.404
645.8	-1.016	-1.399
649.1	-1.042	-1.394
614.6	-0.818	-1.389
623.8	-0.870	-1.384
567.9	-0.608	-1.379
565.2	-0.597	-1.374
587.8	-0.689	-1.369
565.8	-0.600	-1.364
491.7	-0.357	-1.359
451.7	-0.246	-1.354
423.6	-0.173	-1.349
404.4	-0.125	-1.344
370.2	-0.040	-1.339
329.9	0.059	-1.334
296.0	0.144	-1.329
282.3	0.178	-1.324
268.6	0.214	-1.319
200.8	0.402	-1.314
169.1	0.503	-1.309
155.6	0.550	-1.304
146.8	0.582	-1.299
135.5	0.626	-1.294
106.8	0.750	-1.289
94.9	0.810	-1.283
76.3	0.918	-1.278
75.4	0.924	-1.273
69.9	0.960	-1.268
59.5	1.037	-1.263
52.8	1.094	-1.258
58.6	1.045	-1.253

* Representa el valor absoluto de la corriente de reducción para diferentes valores de potencial cercanos a -1.33 V, restada de la corriente residual.

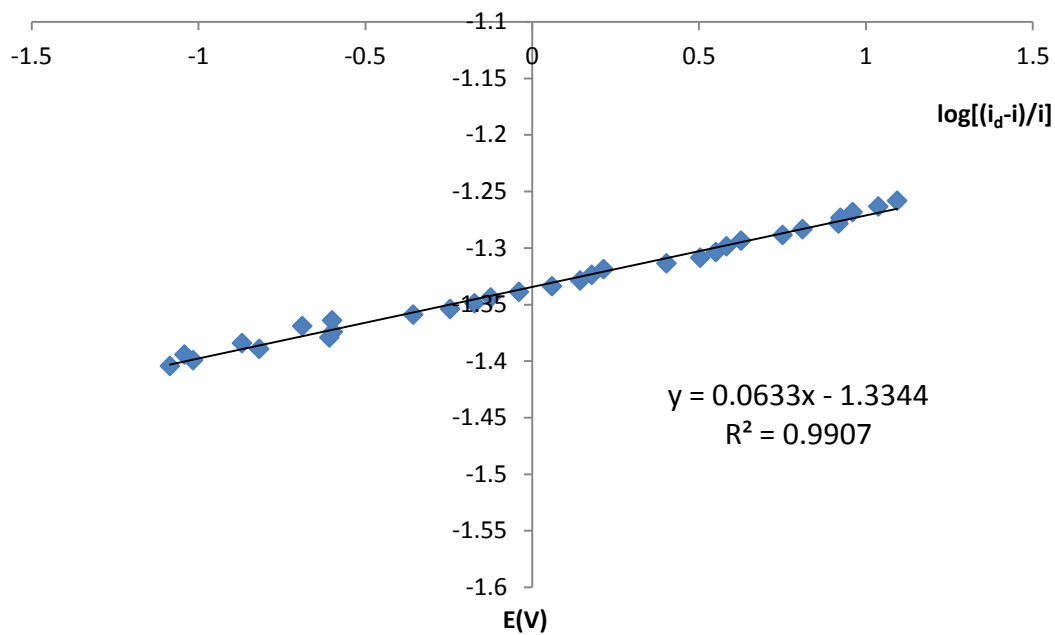


Figura 20. Análisis logarítmico de la señal de reducción de purpurina en -1.33 V.

Realizando este tipo de análisis se obtienen valores de $E_{1/2}$ de -1.33 y -0.652 V para las señales de difusión de purpurina y alizarina respectivamente.

9.2 Gráficos de Tafel

El gráfico de Tafel es una representación de la ecuación de Tafel, es decir que es un gráfico de $\log i$ en función de η :

$$\log i = \log i_0 - \frac{\alpha n F}{2.3 RT} * \eta$$

Donde η es el sobrepotencial ($\eta = E - E_{eq}$), i es la corriente e i_0 es la corriente de intercambio, que representa la corriente que se transfiere al potencial de equilibrio (E_{eq}). Sin embargo, comúnmente se desconoce el potencial normal condicional (E°) del sistema en estudio y los datos de sobrepotencial se sustituyen por los valores de potencial (E) de la curva i/E ; se considera que i tiende a cero y $\log i$ a menos infinito cuando E se acerca a E° .

Gráfico de Tafel para la reducción electroquímica de purpurina en -1.33 V

Se utilizaron las curvas i/E obtenidas por polarografía clásica a cinco diferentes concentraciones de purpurina en la celda (3.88×10^{-4} M, 5.72×10^{-4} M, 7.48×10^{-4} M, 9.18×10^{-4} M y 1.08×10^{-3} M). Como ejemplo, en la siguiente tabla se muestra el tratamiento realizado a una concentración de 3.88×10^{-4} M de purpurina, procediendo de la misma manera para cada concentración.

Tabla 7. Valores experimentales para la gráfica de Tafel.

E(V)	i(A)	i corr (A)*	log i
-1.359	-6.99E-07	1.19E-07	-6.92
-1.354	-6.87E-07	1.07E-07	-6.97
-1.349	-6.78E-07	9.80E-08	-7.01
-1.344	-6.61E-07	8.15E-08	-7.09
-1.339	-6.52E-07	7.20E-08	-7.14
-1.334	-6.43E-07	6.29E-08	-7.20
-1.329	-6.35E-07	5.46E-08	-7.26
-1.324	-6.26E-07	4.58E-08	-7.34
-1.319	-6.24E-07	4.36E-08	-7.36
-1.314	-6.16E-07	3.63E-08	-7.44
-1.309	-6.13E-07	3.27E-08	-7.49
-1.304	-6.03E-07	2.32E-08	-7.63
-1.299	-6.03E-07	2.29E-08	-7.64
-1.294	-6.02E-07	2.17E-08	-7.66

* Representa el valor absoluto de la corriente de reducción para diferentes valores de potencial cercanos a -1.33 V, restada de la corriente residual.

Con los datos de la tabla anterior se graficó $\log i$ en función de E, y se obtuvo la gráfica de la figura 21.

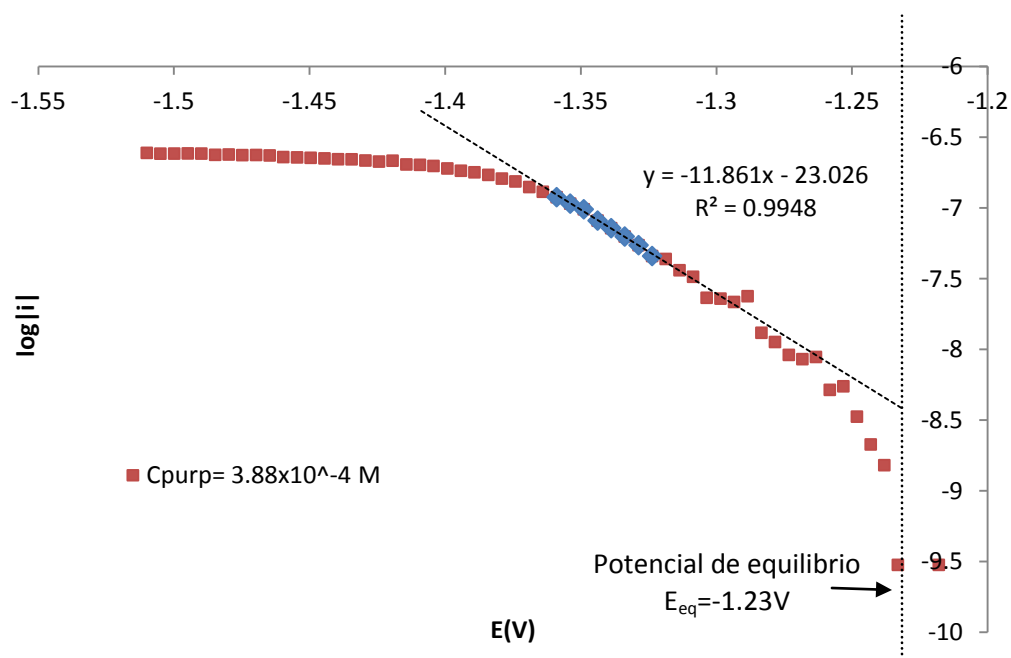


Figura 21. Gráfico de Tafel de purpurina en DMSO.

En la gráfica anterior el valor de la pendiente de la recta (m) corresponde a $-\alpha nF/2.3RT$, de tal forma que al despejar se obtiene un valor de αn :

$$\alpha n = -\frac{2.3RT * m}{F} = -2.3 * (0.02569 V) * (-11.861 V^{-1})$$

$$\alpha n = 0.701$$

Además, en la gráfica se observa que para un potencial de $-1.23 V$ el valor de $\log i$ tiende a menos infinito, es decir que $-1.23 V$ corresponde al potencial de equilibrio del sistema y por lo tanto el valor de $\log i$ dado por la ecuación anterior a dicho potencial puede considerarse como la corriente de intercambio o $\log i_0$, considerando esto se tiene:

$$\log i = -11.861E - 23.026$$

ó

$$\log i_0 = -11.861V^{-1} * (-1.23V) - 23.026$$

Es decir que se tiene: $\log i_0 = -8.44$ y por lo tanto $i_0 = 3.63 \times 10^{-9} A$

Para el caso de la alizarina se procede de manera similar al utilizar las curvas i/E correspondientes a la polarografía clásica de alizarina en concentración $5.77 \times 10^{-4} M$ en la celda, se obtiene un valor de $\alpha n = 0.271$ y de $i_0 = 9.15 \times 10^{-8} A$.

9.3 Determinación del límite de detección y linealidad del método

Como ejemplo para los cálculos de linealidad y límite de detección se muestran los resultados obtenidos para la curva de calibración de la señal de reducción de la purpurina a un potencial de pico (E_p) de -1.33 V , misma que se obtuvo al graficar la corriente de pico de dicha señal (obtenida por polarografía diferencial de impulsos) contra la respectiva concentración de purpurina en la celda, al hacer adiciones comprendidas entre $1.48 \times 10^{-4}\text{ M}$ y $3.85 \times 10^{-4}\text{ M}$ en un medio de LiClO_4 0.1 M en DMSO.

Tabla 8. Valores de intensidad de corriente de pico (i_p) de la señal de reducción de purpurina en -1.33 V .

Volumen purpurina (μL)	[Purpurina] _{celda}	i_{pico} (nA)
0	0.00E+00	0
150	1.48E-04	80.8
200	1.96E-04	107.2
250	2.44E-04	137.2
300	2.91E-04	162.2
350	3.38E-04	191.2
400	3.85E-04	223.2

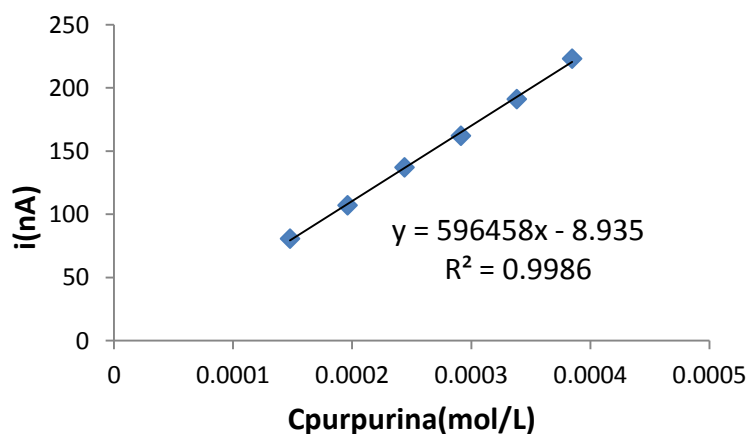


Figura 23. Curva de calibración por PDI para la señal en -1.33 V de purpurina en DMSO.

A partir de la curva de calibración obtenemos la ecuación de la recta que corresponde a la regresión lineal de los puntos graficados. La linealidad del método está dada por el coeficiente de correlación, de tal forma que se tiene:

$$y = 596458x - 8.935$$

$$R^2 = 0.9986$$

$$n = 6$$

Donde:

- y: intensidad de corriente experimental (i_{exp})
- x: concentración de purpurina añadida a la celda (C_{exp})
- R^2 : coeficiente de correlación de la recta
- n=número de datos experimentales

De tal forma la curva presenta una linealidad muy cercana a la unidad ($r^2 = 0.9986$), lo cual indica que la corriente es directamente proporcional a la concentración, es decir que esta señal de reducción se encuentra regulada por la difusión convectiva, lo que permite su aplicación con fines cuantitativos.

Para calcular la mínima concentración de purpurina que puede detectarse, es decir, el límite de detección (LDD), se utilizaron las siguientes ecuaciones:

$$S_{i/c} = \left\{ \frac{\sum (i_{exp} - i_{calc})^2}{(n-2)} \right\}^{1/2}$$

$$i_{calc} = C_{exp} \times m + b$$

$$LDD = 3 S_{i/c} / m$$

Donde:

- $S_{i/c}$: desviación estándar de la recta
- i_{exp} : intensidad de corriente experimental
- C_{exp} : Concentración en la celda de purpurina
- m: pendiente de la ecuación de linealidad
- b: ordenada de la ecuación de linealidad
- LDD: límite de detección

Los resultados que se obtienen al aplicar las ecuaciones anteriores se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 9. Valores para el cálculo del límite de detección.

$C_{exp}(M)$	$i_{exp}(nA)$	$i_{calc}(nA)$	$(i_{exp}-i_{calc})^2$	$S_{i/c}$	Límite de detección (LDD)	
					M	ppm
1.48E-04	80.8	79.34	2.13	2.09	1.09E-05	2.78
1.96E-04	107.2	107.97	0.59			
2.44E-04	137.2	136.60	0.36			
2.91E-04	162.2	164.63	5.93			
3.38E-04	191.2	192.67	2.15			
3.85E-04	223.2	220.70	6.24			
n= 6		$\Sigma=$	17.41			

b= -8.395
m=596458

Aplicando esta metodología se obtienen para la alizarina los siguientes resultados:

Ecuación de la recta: $y= 973121x - 6.2647$

Linealidad del método: $R^2=0.9993$

LDD: $1.05 \times 10^{-5} M$ ó 2.53 ppm

9.4 Determinación de las constantes de formación de complejos

Las estequiometrias y constantes de formación determinadas en este trabajo se obtuvieron a partir del análisis cualitativo y cuantitativo de las curvas $i_p=f(\text{mol catión agregado/mol purpurina})$. A manera de ejemplo se muestra la obtención de dichos valores para el caso del complejo $\text{Ca}(\text{Purp})_3$.

En primer lugar, se obtiene el gráfico de relaciones molares $i_p^{-1.39V}=f(\text{mol catión agregado/mol purpurina})$, el cual es una representación gráfica del valor de la corriente de pico a -1.39 V , que es proporcional a la concentración de purpurina en la celda, contra el valor de la relación molar catión/purpurina, que es una forma distinta de representar la cantidad de iones $\text{Ca}(\text{II})$ añadidos a la celda, pero que permite leer directamente sobre los valores en el eje x la estequiometria de los complejos formados cuando cambia la pendiente de la curva. Para la valoración complejométrica de purpurina ($9.18 \times 10^{-4}\text{ M}$ inicial) con $\text{Ca}(\text{II})\ 0.0105\text{ M}$ se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 10. Conjunto de datos experimentales obtenidos para la curva de valoración complejométrica de purpurina con $\text{Ca}(\text{II})$.

Volumen añadido de $\text{Ca}(\text{II})$ (μL)	Moles de $\text{Ca}(\text{II})$ añadidos	Fracción mol $\text{Ca}(\text{II})/\text{mol purp}$	i (nA) $E=-1.39\text{ V}$
0	0.00E+00	0	818
100	1.00E-06	0.1	704
200	2.00E-06	0.2	594
300	3.00E-06	0.3	543
400	4.00E-06	0.4	513
500	5.00E-06	0.5	510
600	6.00E-06	0.6	534
700	7.00E-06	0.7	529
800	8.00E-06	0.8	543
900	9.00E-06	0.9	584
1000	1.00E-05	1	591
1100	1.10E-05	1.1	601

Continuación de la Tabla 10. Conjunto de datos experimentales obtenidos para la curva de valoración complejométrica de purpurina con Ca(II).

Volumen añadido de Ca(II) (μL)	Moles de Ca(II) añadidos	Fracción mol Ca(II)/mol purp	i (nA) E=-1.39 V
1200	1.20E-05	1.2	622
1300	1.30E-05	1.3	638
1400	1.40E-05	1.4	635
1500	1.50E-05	1.5	637
1600	1.60E-05	1.6	638
1700	1.70E-05	1.7	639

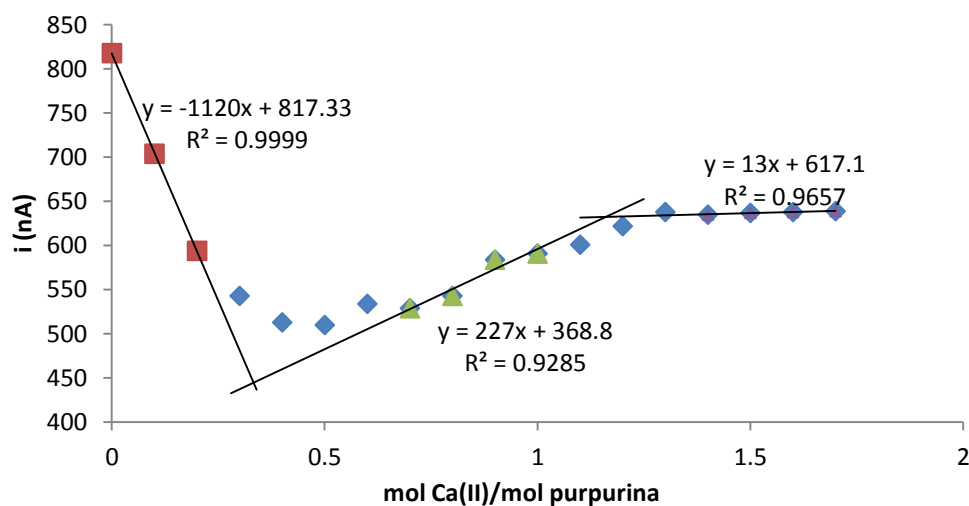
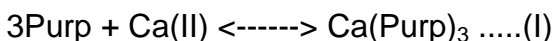


Figura 35. Curva de intensidad de corriente a -1.39 V vs relación molar Ca(II)/Purpurina.

En la curva de la figura 35 se observan 2 puntos de inflexión o cambio de pendiente, en $x=1/3$ y $x=1.15$, lo que indica la formación de los complejos $\text{Ca}(\text{Purp})_3$ y CaPurp , esto quiere decir que durante la valoración se llevan a cabo los siguientes equilibrios:



Ahora bien, como la señal en -1.39 V es de difusión convectiva, se puede relacionar directamente su valor respectivo de corriente de pico (i_p) con la concentración de purpurina (C_{purp}) presente en su forma libre, es decir, no complejada. Entonces, si al inicio ($x=0$) se tiene un valor de $i_p= 818$ nA para $C_{purp}= 9.18 \times 10^{-4}$ M, en el primer punto de equivalencia ($x=0.301$), donde se tiene una $i_p= 543$ nA, entonces se tiene una C_{purp} de:

$$C_{purp} = (54.3 \text{ nA} / 818 \text{ nA}) * 9.18 \times 10^{-4} \text{ M} = 6.10 \times 10^{-4} \text{ M}$$

Corrigiendo por el factor de dilución se tiene:

$$C_{purp} = 6.10 \times 10^{-4} \text{ M} * (11.3 \text{ mL} / 11.1 \text{ mL}) = 6.21 \times 10^{-4} \text{ M}$$

Esta es la concentración de purpurina en la celda cuando se alcanza el primer punto de equivalencia, y como además se conocen tanto la concentración inicial de purpurina, la de calcio agregada y la estequiometría de la reacción, se puede escribir el siguiente cuadro de balance de masa:

	Ca(II)	+	3Purp	<----->	Ca(Purp) ₃
Inicio	300 μ L*0.0105 M= 0.00337 mmol		11mL*9.18x10 ⁻⁴ M= 0.0101 mmol		0
Reacciona					
Equilibrio			11.3mL*6.21x10 ⁻⁴ M= 0.00702 mmol		

A partir de los datos anteriores, se puede conocer inmediatamente la cantidad de moles de purpurina que reaccionaron con Ca(II), que es:

$$n_{purp}^{reacción} = n_{purp}^{total} + n_{purp}^{equilibrio} = 0.0101 - 0.00702 \text{ mmoles}$$

$$n_{purp}^{reacción} = 0.00308 \text{ mmol purpurina}$$

Este dato sirve para inferir la cantidad de Ca(II) que reaccionó así como la cantidad del complejo formado, pues se conoce la estequiometría de la reacción:

$$0.00308 \text{ mmol purpurina} * \frac{1 \text{ mmol Ca(II)}}{3 \text{ mmol purpurina}} = 0.00103 \text{ mmol Ca(II)}$$

De tal forma que:

$$n_{Ca(II)}^{equilibrio} = n_{purp}^{total} - n_{Ca(II)}^{reacción} = 0.00337 - 0.00103 \text{ mmol}$$

$$n_{Ca(II)}^{equilibrio} = 0.00234 \text{ mmol Ca(II)}$$

Y además:

$$0.00308 \text{ mmol purpurina} * \frac{1 \text{ mmol Ca(Purp)}_3}{3 \text{ mmol purpurina}} = 0.00103 \text{ mmol Ca(Purp)}_3$$

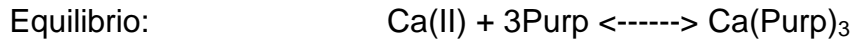
$$n_{Ca(Purp)_3}^{equilibrio} = 0.00103 \text{ mmol Ca(Purp)}_3$$

Al calcular estos valores se puede determinar la concentración de todas las especies al equilibrio durante el primer punto de equivalencia, donde el volumen total en la celda es de 11.3 mL, los cálculos anteriores se resumen en el siguiente cuadro:

	Ca(II)	+ 3Purp	<-----> Ca(Purp) ₃
Inicio	300µLx0.0105 M= 0.00337 mmol	11mLx9.18x10 ⁻⁴ M= 0.0101 mmol	0
Reacciona	0.00103 mmol*	0.00308 mmol*	0.00103 mmol*
Equilibrio	0.00234 mmol*/11.3 mL= 2.071x10 ⁻⁴ M	11.3mLx6.21x10 ⁻⁴ M= 0.00702 mmol	0.00103mmo*/11.3mL= 9.115x10 ⁻⁵ M

*Valores calculados a partir de los datos experimentales que están en negritas.

Basta sustituir los valores de concentración al equilibrio anteriores en la expresión de la constante de equilibrio para determinar su valor:



Constante de equilibrio: $k_f = \beta_3 = \frac{[\text{Ca(Purp)}_3]}{[\text{Ca(II)}][\text{Purp}]^3}$

$$k_f = \beta_3 = \frac{[\text{Ca(Purp)}_3]}{[\text{Ca(II)}][\text{Purp}]^3} = \frac{(9.115 \times 10^{-5} M)}{(2.071 \times 10^{-4} M) * (6.21 \times 10^{-4} M)^3} = 1.84 \times 10^9$$

Esto se puede escribir también como $\log \beta = 9.26$.

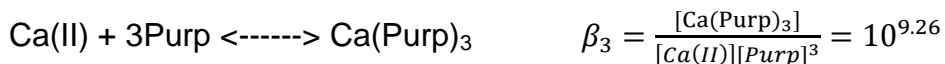
9.5 Construcción de los diagramas de abundancia relativa de especies

A continuación se muestra, a modo de ejemplo, el procedimiento que se siguió para la construcción del diagrama de abundancia relativa de las especies presentes durante la formación de complejos Ca(II)-purpurina.

Un diagrama de abundancia relativa de especies es un gráfico de φ en función del $\log[L]$, donde φ representa a la fracción, en términos de concentración, de la especie de interés y $[L]$ la concentración de la partícula intercambiada o en su caso la especie que represente la variable independiente; por ejemplo, $\varphi_{Ca^{2+}}$ se escribiría como:

$$\varphi_{Ca^{2+}} = \frac{[Ca^{2+}]}{[Ca^{2+}]_{total}} = \frac{[Ca^{2+}]}{[Ca^{2+}] + [CaPurp] + [CaPurp_3]}$$

Si recordamos que los equilibrios que dan lugar a las formas complejadas del Ca(II) son los siguientes:



Entonces podemos escribir $\varphi_{Ca^{2+}}$ de la siguiente forma:

$$\varphi_{Ca^{2+}} = \frac{[Ca^{2+}]}{[Ca^{2+}] + [CaPurp] + [CaPurp_3]} = \frac{[Ca^{2+}]}{[Ca^{2+}] + \beta_1[Ca^{2+}][Purp] + \beta_3[Ca^{2+}][Purp]^3}$$

$$\varphi_{Ca^{2+}} = \frac{[Ca^{2+}]}{[Ca^{2+}]\{1 + \beta_1[Purp] + \beta_3[Purp]^3\}} = \frac{1}{\{1 + \beta_1[Purp] + \beta_3[Purp]^3\}}$$

Es decir que $\varphi_{Ca^{2+}}$ es igual a :
$$\varphi_{Ca^{2+}} = \frac{1}{\{1 + \beta_1[Purp] + \beta_3[Purp]^3\}}$$

Siguiendo un desarrollo algebraico similar se obtienen las siguientes expresiones:

$$\varphi_{CaPurp} = \frac{\beta_1[Purp]}{\{1 + \beta_1[Purp] + \beta_3[Purp]^3\}} = \varphi_{Ca^{2+}} * \beta_1[Purp]$$

$$\varphi_{CaPurp_3} = \frac{\beta_3[Purp]^3}{\{1 + \beta_1[Purp] + \beta_3[Purp]^3\}} = \varphi_{Ca^{2+}} * \beta_3[Purp]^3$$

Según las expresiones anteriores, la abundancia relativa de cada especie depende únicamente de la concentración de purpurina libre en disolución ($[Purp]$) y de las respectivas constantes globales de formación (β_i), de tal forma que los diagramas se pueden construir simplemente al asignar diferentes valores a $[Purp]$ y calcular los respectivos $\varphi_{Ca^{2+}}$, φ_{CaPurp} y φ_{CaPurp_3} .

Como ejemplo se muestra la siguiente tabla donde se asignaron valores a $pPurp$, que es el $-\log [Purp]$, entre 0 y 10, de donde se obtiene $[Purp]$ y se calculan después los valores de φ :

Tabla 11. Conjunto de valores calculados para construir el diagrama de abundancia relativa para los complejos Ca(II)-purpurina.

pPurp	[Purp]	φ Ca²⁺	φ CaPurp	φ CaPurp₃
0	1.0000	5.50E-10	5.50E-06	1.0000
0.5	0.3162	1.74E-08	5.50E-05	0.9999
1	0.1000	5.49E-07	0.0005	0.9995
1.5	0.0316	1.73E-05	0.0055	0.9945
2	0.0100	0.0005	0.0521	0.9474
2.5	0.0032	0.0111	0.3507	0.6382
3	0.0010	0.0780	0.7800	0.1419
3.5	0.0003	0.2370	0.7494	0.0136
4	0.0001	0.4995	0.4995	0.0009
4.5	3.16E-05	0.7597	0.2402	4.37E-05
5	1.00E-05	0.9091	0.0909	1.65E-06
5.5	3.16E-06	0.9693	0.0307	5.58E-08
6	1.00E-06	0.9901	0.0099	1.80E-09
6.5	3.16E-07	0.9968	0.0032	5.74E-11
7	1.00E-07	0.9990	0.0010	1.82E-12
7.5	3.16E-08	0.9997	0.0003	5.75E-14
8	1.00E-08	0.9999	9.999E-05	1.82E-15
8.5	3.16E-09	1.0000	3.162E-05	5.75E-17
9	1.00E-09	1.0000	1.000E-05	1.82E-18
9.5	3.16E-10	1.0000	3.162E-06	5.75E-20
10	1.00E-10	1.0000	1.000E-06	1.82E-21

Con los datos de la tabla 11 es posible obtener de forma directa el diagrama de abundancia relativa al graficar los respectivos valores de φ para cada especie contra pPurp. Al hacerlo se obtiene el siguiente diagrama:

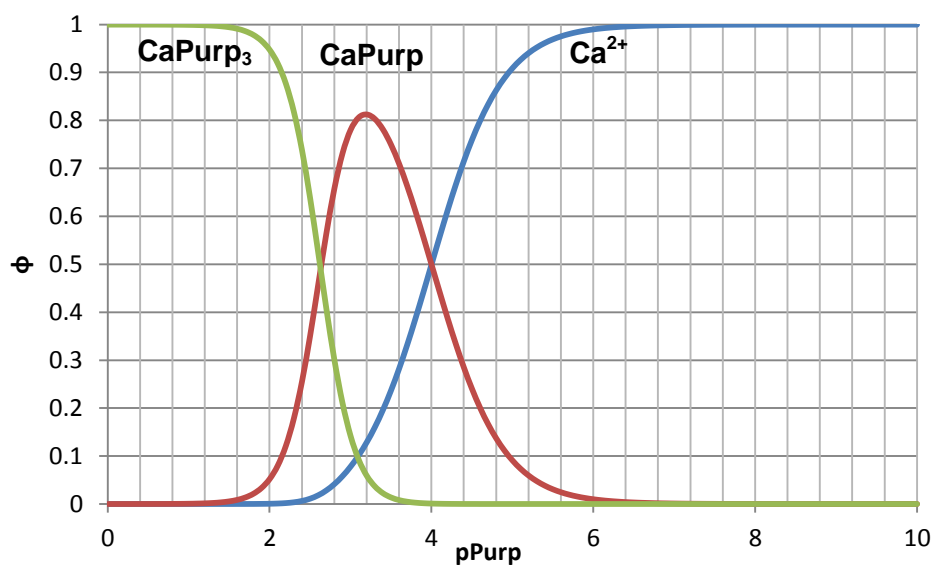


Figura 43. Diagrama de abundancia relativa de especies para los complejos de Ca(II) con purpurina

9.6 Cuantificación de purpurina y alizarina en un extracto de *Rubia cordifolia*

El contenido de purpurina y alizarina en un extracto comercial de *Rubia cordifolia* se determinó con ayuda de los datos obtenidos a partir de un experimento donde se trazaron las curvas de i/E en PDI para 10.0 mL de LiClO_4 0.1 M en DMSO con: 1) 1600 μL de disolución del extracto de *Rubia cordifolia*, 2) la disolución 1 más 90 μL de purpurina 0.0101 M y 3) la disolución 2 más 90 μL de alizarina 0.0102 M. Este experimento se representa en la siguiente gráfica:

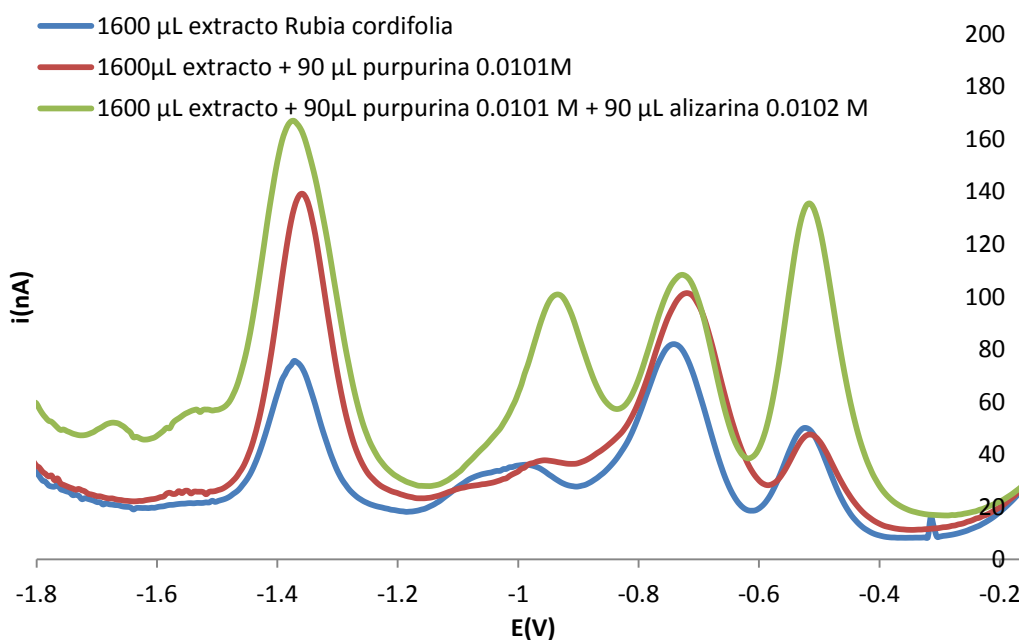


Figura 49. Curvas i/E en polarografía diferencial de impulsos (PDI) de un extracto de *Rubia cordifolia* con adiciones de purpurina y alizarina en DMSO.

Los datos relevantes de esta gráfica se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 12. Valores de corriente (i_p) correspondientes a las señales de reducción de purpurina y alizarina en mezclas extracto/purpurina/alizarina.

Curva	Corriente i_p (nA)	
	E=-1.37 V	E=-0.516 V
Extracto	53.9	35.5
Extracto + 90 μ L de purpurina 0.0101 M	114	35.5
Extracto + 90 μ L de purpurina 0.0101 M+ 90 μ L de alizarina 0.0102 M	131	105

Los datos en la tabla anterior reflejan que la señal en -0.516 V no se ve afectada por las adiciones de purpurina y sin embargo su magnitud incrementa al agregarse alizarina a la celda, esto quiere decir que esta señal corresponde a la señal característica de la alizarina en este medio, por lo que al relacionar las corrientes antes y después de la adición de alizarina se puede determinar el contenido de la misma en el extracto, la cual da origen desde un inicio a la señal con $i_p=35.5$ nA. Debido a que la corriente i_p es directamente proporcional a la concentración, se puede establecer la siguiente relación:

$$\frac{i_p^{alizarina\ total}}{i_p^{alizarina\ extracto}} = \frac{C_{alizarina\ total}}{C_{alizarina\ extracto}}$$

Donde al desarrollar los términos $C_{alizarina\ total}$ y $C_{alizarina\ extracto}$ se obtiene:

$$\frac{i_p^{alizarina\ total}}{i_p^{alizarina\ extracto}} = \frac{\frac{n_{alizarina}^{extracto} + n_{alizarina}^{estandar}}{V_{final}}}{\frac{n_{alizarina}^{extracto}}{V_{inicial}}}$$

Y sustituyendo:

$$\frac{105\ nA}{35.5\ nA} = \frac{\frac{n_{alizarina}^{extracto} + 9.18 \times 10^{-7}\ mol}{0.01178\ L}}{\frac{n_{alizarina}^{extracto}}{0.0116\ L}}$$

De tal manera que al despejar $n_{alizarina}^{extracto}$ se obtiene $n_{alizarina}^{extracto} = 2.293 \times 10^{-7} \text{ mol}$. Este valor indica la cantidad de moles de alizarina presentes en los 1600 μL de disolución del extracto de *Rubia cordifolia*, y si se sabe que esta alícuota se tomó de una disolución preparada a partir de 0.0647 g del extracto llevados a 25.0 mL, entonces el porcentaje en masa (% m/m) de alizarina en el extracto es:

$$\%m/m = \frac{m_{alizarina}}{m_{extracto}} * 100\% = \frac{25\text{mL} * \frac{2.293 \times 10^{-7} \text{ mol}}{1.6\text{mL}} * \frac{240\text{g}}{1\text{mol alizarina}}}{0.0647 \text{ g}} * 100\%$$

$$\%m/m_{alizarina} = 1.33 \%$$

Adicionalmente se puede calcular la concentración de alizarina en la celda con electrolito soporte más la adición del extracto:

$$C_{alizarina \text{ celda con extracto}} = \frac{2.293 \times 10^{-7} \text{ mol}}{10 \times 10^{-3} + 1.6 \times 10^{-3} \text{ L}} = 1.98 \times 10^{-5} \text{ M}$$

Este dato es importante pues indica, de acuerdo a la figura 32 del capítulo de Resultados, que la señal de reducción de alizarina en -1.33 V no contribuye prácticamente a la corriente en la curva i/E del extracto, pues a esta concentración esta señal no se detecta aún, lo cual quiere decir que la corriente i_p del extracto a dicho potencial se debe únicamente a la presencia de purpurina en el mismo, por lo que la cuantificación de purpurina se puede realizar de manera similar al caso ya descrito; usando los datos de la tabla 9 se tiene:

$$\frac{i_p^{purpurina \text{ total}}}{i_p^{purpurina \text{ extracto}}} = \frac{C_{purpurina \text{ total}}}{C_{purpurina \text{ extracto}}}$$

Y desarrollando los términos $C_{purpurina \text{ total}}$ y $C_{purpurina \text{ extracto}}$ se obtiene:

$$\frac{i_p^{\text{purpurina total}}}{i_p^{\text{purpurina extracto}}} = \frac{\frac{n_{\text{purpurina}}^{\text{extracto}} + n_{\text{purpurina}}^{\text{estándar}}}{V_{\text{final}}}}{\frac{n_{\text{purpurina}}^{\text{extracto}}}{V_{\text{inicial}}}}$$

Sustituyendo:

$$\frac{114 \text{ nA}}{53.9 \text{ nA}} = \frac{\frac{n_{\text{purpurina}}^{\text{extracto}} + 9.09 \times 10^{-7} \text{ mol}}{0.01169 \text{ L}}}{\frac{n_{\text{purpurina}}^{\text{extracto}}}{0.0116 \text{ L}}}$$

Al despejar $n_{\text{purpurina}}^{\text{extracto}}$ se obtiene $n_{\text{purpurina}}^{\text{extracto}} = 2.90 \times 10^{-7} \text{ mol}$ y procediendo de la misma forma que con la alizarina se encuentra que:

$$\%m/m = \frac{m_{\text{purpurina}}}{m_{\text{extracto}}} * 100\% = \frac{25 \text{ mL} * \frac{2.90 \times 10^{-7} \text{ mol}}{1.6 \text{ mL}} * \frac{256 \text{ g}}{1 \text{ mol purpurina}}}{0.0647 \text{ g}} * 100\%$$

$$\%m/m_{\text{purpurina}} = 1.79 \%$$