



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

ESTUDIO ELECTROQUÍMICO DE ÁCIDO KERMÉSICO
OBTENIDO DE GRANA COCHINILLA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA DE ALIMENTOS
P R E S E N T A :
OLGA PALACIOS DUQUE



México,D.F.

2012



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: Pedro Villanueva González

VOCAL: Eugenio Octavio Reyes Salas

SECRETARIO: José Guillermo de Jesús Aguilar Osorio

1° SUPLENTE: Jorge Arturo Aburto Anell

2° SUPLENTE: 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:

Olga Palacios Duque

A los compañeros que partieron de este mundo sin la oportunidad de culminar la carrera.

Sandra, Susana...

A mi amada familia.

“Alegría, hermoso destello de la divinidad”

Agradecimientos

A nuestra honorable Universidad que en sus aulas me formó orgullosamente UNAM.

A mi asesor el Dr. Octavio Reyes, por la generosidad con la que me brindó sus conocimientos, amabilidad, comprensión y apoyo; hizo posible la cristalización de mi sueño.

Agradecimiento especial a ALTECSA por el material brindado para este estudio.

A la Q. Selma Sosa, su ayuda técnica, apoyo y conocimientos fueron fundamentales para la realización de este trabajo, pero sobre todo por su entrañable amistad.

A todos mis compañeros del laboratorio 114; a Diego, Edgar y Sara por su asesoría técnica.

A mis padres Servando y Ricarda por su amor, comprensión y apoyo; han sido mi catalizador.

A mis hermanos Nico, Alex y Lalo porque deseo ser un ejemplo para ustedes. Ara, tú has sido mi modelo a seguir, no tengo palabras para agradecerte todo lo que haces por mí. Hugo, me brindaste apoyo, pero sobre todo por los hermosos niños que has traído a mi vida, que son motivo de superación.

A todos los amigos que me alentaron a seguir adelante, que estuvieron y están a mi lado compartiendo gratos momentos.

Dios los bendiga.

Un hombre sabio contestó una vez a la pregunta ¿quién o qué somos? Diciendo: “somos la suma de todo aquello que ocurrió antes de nosotros, de todo aquello que tuvo lugar ante nuestros ojos, de todo aquello que se nos cedió, somos cada persona y cada cosa que ha influido en nuestra existencia y que ha sido influida por la nuestra, somos todo lo que pasa después de que ya no existimos y lo que no ocurriría sino hubiéramos existido”.

(Extraído de película “Almanya – Willkommen in Deutschland”)

ÍNDICE

CONTENIDO	PÁGINA
RESUMEN.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	3
2. ANTECEDENTES.....	6
2.1. GENERALIDADES.....	6
2.1.1. Colorantes.....	8
2.1.2. Clasificación de colorantes.....	10
2.1.3. Colorantes en alimentos.....	11
2.2. ÁCIDO CARMÍNICO.....	12
2.2.1. Antecedentes históricos.....	14
2.2.2. Propiedades.....	16
2.2.3. Regulación.....	18
2.2.4. Producción.....	19
2.2.5. Productos y usos.....	20
2.3. ÁCIDO KERMÉSICO.....	22
2.3.1. Antecedentes históricos.....	24
2.3.2. Propiedades.....	25
2.3.3. Producción.....	25
2.3.4. Productos y usos.....	26
3. OBJETIVOS.....	27
3.1. Objetivo general.....	27
3.2. Objetivos particulares.....	27
4. METODOLOGÍA.....	28
4.1. REACTIVOS.....	29
4.2. EQUIPO.....	30

4.3. OBTENCIÓN Y ESTUDIO DE ÁCIDO KERMÉSICO.....	30
4.3.1. Extracción de ácido carmínico de la grana cochinilla.....	30
4.3.2. Cuantificación de ácido carmínico.....	30
4.3.3. Hidrólisis del ácido carmínico para obtener ácido kermésico.....	31
4.3.4. Obtención de ácido kermésico libre de glucosa.....	31
4.3.5. Cuantificación de ácido kermésico.....	32
4.3.6. Cromatografía en capa fina del ácido kermésico libre de glucosa.....	32
4.4. ESTUDIO ELECTROQUÍMICO FUNDAMENTAL DE ÁCIDO KERMÉSICO.....	33
4.4.1. Análisis polarográfico del ácido kermésico.....	33
4.4.2. Pruebas cualitativas de ácido kermésico con algunos cationes metálicos....	34
4.4.3. Análisis polarográfico de ácido kermésico con calcio, aluminio y magnesio..	34
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
5.1. OBTENCIÓN Y ESTUDIO DE ÁCIDO KERMÉSICO	36
5.1.1. Rendimiento de extracción de la grana cochinilla y cuantificación de ácido carmínico.....	36
5.1.2. Obtención de ácido kermésico libre de glucosa.....	39
5.1.3. Cuantificación de ácido kermésico.....	41
5.1.4. Cromatografía en capa fina del ácido kermésico libre de glucosa.....	43
5.2. ESTUDIO ELECTROQUÍMICO FUNDAMENTAL DE ACIDO KERMESICO.....	45
5.2.1. Análisis polarográfico del ácido kermésico.....	45
5.2.2. Análisis polarográfico de ácido kermésico en nitrato de potasio 0.2 M.....	46
5.2.3. Gráficas de calibración y límite de detección para las señales de reducción del ácido kermésico en nitrato de potasio 0.2 M.....	51
5.2.4. Análisis polarográfico del ácido kermésico en una disolución reguladora de boratos de pH 10.....	55

5.2.5. Pruebas cualitativas de ácido kermésico con algunos cationes metálicos...	58
5.2.6. Análisis polarográfico de ácido kermésico en presencia de aluminio.....	61
5.2.7. Análisis polarográfico de ácido kermésico en presencia de calcio.....	65
5.2.8. Análisis polarográfico de ácido kermésico en presencia de magnesio.....	68
6. CONCLUSIONES.....	73
8.1. PERSPECTIVAS.....	75
7. BIBLIOGRAFÍA.....	76
8. ANEXOS.....	80
8.1. CÁLCULOS DEL RENDIMIENTO Y CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO CARMÍNICO EN EL EXTRACTO DE COCHINILLA.....	80
8.2. OBTENCIÓN DE ÁCIDO KERMÉSICO LIBRE DE GLUCOSA.....	82
8.3. CÁLCULOS DE LA CUANTIFICACIÓN Y RENDIMIENTO DE ÁCIDO KERMÉSICO EN EL EXTRACTO DE COCHINILLA.....	83
8.4. DETERMINACIÓN DE LOS POTENCIALES DE MEDIA ONDA ($E_{1/2}$) Y DE PICO (E_{pico}) EN EL ESTUDIO ELECTROQUÍMICO DEL ÁCIDO KERMÉSICO.....	85
8.4.1. Potencial de media onda ($E_{1/2}$) y potencial de pico (E_{pico}).....	85
8.5. CÁLCULOS PARA LA GRÁFICA DE CALIBRACIÓN Y EL LÍMITE DE DETECCIÓN DE LAS SEÑALES DE REDUCCIÓN DEL ÁCIDO KERMÉSICO EN NITRATO DE POTASIO.....	87

RESUMEN

En el presente trabajo se realizó el estudio del comportamiento electroquímico fundamental del ácido kermésico obtenido por hidrólisis ácida a partir de ácido carmínico extraído de grana cochinilla (*Dactylopius coccus costa*) como una alternativa de uso para el coloreado de alimentos y/o bebidas.

Se realizó la extracción de ácido carmínico a partir de 100.0 g de grana cochinilla comercial mexicana, por ebullición en agua destilada (5 extracciones con 300.0 mL cada una), se concentró en rotavapor y se llevo a un volumen de 250.0 mL; su cuantificación se efectuó por medio de una valoración ácido-base. Con el procedimiento descrito el rendimiento de extracción fue de 23.3 %.

Posteriormente el ácido carmínico se expuso a una hidrólisis ácida para obtener ácido kermésico, para ello se tomaron 100.0 mL del extracto, se adicionaron 2.0 mL de ácido sulfúrico concentrado y se dejó en ebullición durante 15 minutos; después se filtró para separar los residuos de materia orgánica excedente y se separó de la glucosa en la disolución.

El ácido kermésico obtenido se cuantificó por métodos volumétricos y se determinó el porcentaje de extracción, 36.8%. Por cromatografía en capa fina (CCF) en silica gel, se determinaron los valores de R_f de 0.65 para ácido carmínico y 0.77 para ácido kermésico al utilizar agua como disolvente y una mezcla 40:60 de acetato de etilo-metanol como eluyente.

El análisis electroquímico se efectuó por polarografía clásica (PC) y polarografía diferencial de impulsos (PDI) con nitrato de potasio 0.2 M como electrolito soporte; el dominio de electroactividad se estableció de -1800 mV a 200 mV con una velocidad de barrido de 5 mVs⁻¹. Los valores de potencial de media onda se obtuvieron mediante un análisis matemático.

En este medio, se observaron tres señales a potencial de media onda de $E^{1/2} \approx -325$ mV, $E^{2/2} \approx -460$ mV y $E^{3/2} \approx -952$ mV; la segunda señal presentó la mejor linealidad ($r^2 = 0.9945$) y es adecuada para su cuantificación ($LDD = 8.2 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹), probablemente está directamente

relacionada a la reducción del ácido kermésico, mientras que las otras señale se deban a fenómenos de transferencia no regidos por difusión convectiva, absorciones o equilibrios químicos.

Por otro lado, se realizaron pruebas a la gota entre ácido kermésico ($C_{16}H_{10}O_8$) y las siguientes sales: cloruro de calcio ($CaCl_2$), sulfato ferroso ($FeSO_4$), cloruro de aluminio ($AlCl_3$), cloruro de estroncio ($SrCl_2$), cloruro estanoso ($SnCl_2$), cloruro de zinc ($ZnCl_2$), nitrato de plata ($AgNO_3$), cloruro de manganeso ($MnCl_2$), sulfato de magnesio ($MgSO_4$) y nitrato de cobre $Cu(NO_3)_2$ en medio ácido y básico.

En medio ácido se observaron cambios apreciables de color (posible formación de complejos) entre el ácido kermésico y la mayoría de los cationes estudiados, excepto con calcio y cobre. En medio básico, el cambio de color respecto al color del kermésico en este medio no fue notorio con manganeso; con calcio, fierro, estroncio, magnesio, zinc y plata incluso se observó precipitación.

Se realizaron valoraciones de kermésico con cloruro de calcio 0.02054 M, cloruro de aluminio 0.02616 M y sulfato de magnesio 0.02717 M por polarografía clásica y polarografía diferencial de impulsos en disolución amortiguadora de boratos a pH 10 y se determinaron las posibles estequiometrias de los complejos formados. Para cada uno de estos cationes se encontraron dos posibles estequiometrias, para aluminio AlL_3 y Al_3L_2 ; en el caso de calcio CaL y Ca_2L ; para cada complejo formado con magnesio, MgL y Mg_2L , igual que con calcio.

1. INTRODUCCIÓN

En el mercado se pueden encontrar una gran variedad de productos en los que el color representa la elección de alguno sobre otro, permite identificarlos, clasificarlos y constituye un parámetro de calidad. Conocer la química de los colorantes permite controlar el color y su estabilidad en el medio al que se tengan que adicionar así como las cantidades necesarias para obtener los colores deseados con Buenas Prácticas de Fabricación (BPF) y un adecuado control de calidad.

En el coloreado de los alimentos procesados se han utilizado colorantes de síntesis pero muchos de ellos han sido prohibidos para su uso alimenticio por su toxicidad y efectos a largo plazo (carcinogenicidad, principalmente). Se han identificado problemas con ciertos colorantes azoicos, especialmente con FD&C Rojo No. 3 (eritrosina), FD&C Rojo No. 40 (rojo allura) y FD&C Amarillo No. 5 (tartrazina), por lo que en la actualidad se ha incrementado nuevamente el interés por los colorantes naturales.⁽¹⁾

El estudio químico de colorantes naturales es fundamental para ampliar su uso en alimentos, esto con el fin de proporcionarles un valor estético dado que durante el procesamiento o almacenamiento se modifican las propiedades, llegando incluso a deteriorarse, ya que la estabilidad de los pigmentos naturales depende de factores tales como la presencia de luz, metales pesados, temperatura, agentes oxidantes o reductores, actividad del agua y pH.⁽¹⁾

Entre los colorantes naturales más utilizados desde tiempos remotos como fuentes de pigmentos rojos, se encuentran el ácido kermésico y el ácido carmínico, ambos obtenidos de los cuerpos secos de las hembras de insectos parásitos *Coccus ilicis* y *Dactylopius coccus costa* respectivamente, que al formar complejos con algunos iones metálicos se obtienen lacas de colores brillantes y químicamente estables; sin embargo la información y el estudio químico sobre estos colorantes es limitado, sobre todo para el ácido kermésico.

En México el uso de grana cochinilla se remonta a la época prehispánica, donde los aztecas incluso pedían tributo a otras poblaciones consistente en costales de cochinilla; se usaba en el teñido de telas, objetos, alimentos, entre otros. La producción de cochinilla fue muy importante durante la época colonial, finales del siglo XVI hasta mediados del siglo XIX, constituyendo el tercer producto de exportación a Europa después del oro y la plata.⁽²⁾

La producción de grana cochinilla en México actualmente es limitada y no figura como productor a nivel mundial. Perú es el principal productor con el 80% del mercado mundial, seguido por las Islas Canarias con el 10%, Chile 8% y Bolivia con el 2% restantes. El mercado nacional e internacional está en aumento dadas las restricciones sobre el uso de colorantes artificiales, esto hace necesario el estudio de nuevos métodos de obtención y análisis de colorantes naturales.^(2,3)

Las sustancias que se agregan intencionalmente a los alimentos (aditivos), deben ser reguladas por ley apoyándose en métodos científicos y estudiándolas bajo las condiciones en que se intenta utilizarlas. La clasificación GRAS (generally regarded as safe, por sus siglas en inglés) es designada por la comunidad científica, un aditivo que esté dentro de esta clasificación está exento de certificación. Los colorantes naturales son considerados GRAS en su mayoría, sin embargo cada país se reserva el derecho de aceptar o rechazar esta clasificación.

La Food and Drug Administration (FDA) define como colorante a la sustancia que posee una pureza de grado alimenticio y está certificado con un número FD&C (food, drug and cosmetics, por sus siglas en inglés) para uso en alimentos, medicamentos y cosméticos; los colorantes exentos de certificación son pigmentos naturales o colorantes sintéticos idénticos al natural. La Comunidad Económica Europea (CEE) le ha asignado a cada colorante permitido un número E comprendido entre 100 y 180.^(4,5)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización para los Alimentos y la Agricultura (FAO) implementaron el Codex Alimentarius, creado en 1963, como un intento de armonizar las regulaciones entre países; han diseñado la Ingesta Diaria Aceptable (IDA) para

aditivos situándolos en tres listas A, B o C. Los aditivos encontrados en la lista A subparte A-1 son considerados sin riesgo para el consumidor, contiene 15 colorantes incluidos 6 artificiales. La IDA para el ácido carmínico es 5 mg/Kg de peso corporal.^(1,6)

En México la norma oficial mexicana NOM-119-SSA1-1994, se encarga de regular el uso así como las especificaciones físicas, químicas, de identidad y pureza de colorantes orgánicos naturales permitidos en alimentos, entre los que figura la cochinilla con un contenido de ácido carmínico no menor al 1.8 % para extractos y no menos de 50 % en lacas de carmín; la NOM-038-SSA1-1993 regula el uso de los colorantes orgánicos sintéticos.⁽⁷⁾

México es un país importador de carmín por lo que la investigación para la obtención de nuevos productos derivados de la cochinilla y mejora de los ya existentes, representa una aportación para cubrir la demanda de colorantes naturales. El cultivo de grana cochinilla se ha vuelto nuevamente una actividad rentable y una posible fuente de captación de divisas en el mercado internacional.

2. ANTECEDENTES

2.1. GENERALIDADES

La apariencia de los alimentos es tan importante como su sabor e influye en su percepción; es decir, el consumidor asocia el color al sabor de los alimentos, a su calidad y frescura. La conservación del aspecto de los alimentos que han perdido sus colores naturales durante su procesamiento así como la reducción de variaciones entre lotes de producción, se puede corregir mediante el uso de colorantes.

Los colorantes sintéticos han sido percibidos cada vez más como indeseables o perjudiciales para los consumidores, por lo que en la actualidad se ha incrementado considerablemente la demanda de colorantes naturales, como es el caso del ácido carmínico de la grana cochinilla, debido a la prohibición de colorantes rojos sintéticos, principalmente. La producción de cochinilla se ha vuelto de nuevo una actividad rentable.

El uso de colorantes artificiales comienza a finales del siglo XIX con colorantes derivados de alquitranes que rápidamente reemplazaron a los colorantes naturales debido a su bajo costo y variedad de tonos, aunque sin preocuparse por el aspecto toxicológico. Algunos compuestos de cobre, plomo y arsénico muy tóxicos fueron utilizados para colorear fraudulentamente los alimentos.

Es hasta el año de 1906 que se crea la primera ley federal integral de protección al consumidor en Estados Unidos, la Ley de Alimentos y Medicamentos, que prohibía productos con etiquetados engañosos, sin embargo, muchos productos adulterados siguieron causando graves daños en la salud, por lo que en el año de 1938 se promulgo la Ley de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos, estableciendo controles de calidad más estrictos.

La enmienda de 1958 regula el uso de aditivos en alimentos (Food Additives Amendment) en la que están exentas de regulación las sustancias aprobadas anteriormente a esta enmienda y las sustancias denominadas GRAS; establece la certificación para colorantes sintéticos. En 1960

se implementa una enmienda para colorantes así como la Cláusula Delaney, ella establece que ningún aditivo que demuestre causar cáncer en el hombre o en animales de laboratorio, no importando la dosis, no puede ser usado en alimentos. Esta ley y sus enmiendas siguen vigentes actualmente.^(1,4)

Para la Unión Europea, el Consejo de Europa ha emitido directivas de legislación de aditivos, basado en estudios realizados por el Comité Científico de la Alimentación Humana; se toma como referencia la Directiva 89/107/CEE, que se desarrolla a través de las Directivas 94/35/CEE sobre edulcorantes, 94/36/CEE sobre colorantes y 95/2/CEE sobre aditivos, distintos de colorantes y edulcorantes.^(8,9)

La legislación mexicana sobre aditivos se encuentra referida en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios de 1988; aquí se asigna el grupo 8 a colorantes clasificándolos en: a) colorantes orgánicos naturales, b) colorantes orgánicos sintéticos o colorantes artificiales y c) colorantes minerales. Se hace énfasis en las condiciones de uso de los aditivos prohibiendo ser utilizados con fines de ocultar una calidad deficiente.^(7,10)

La investigación sobre colorantes naturales es necesaria para establecer sus características físicas y químicas, permite conocer las condiciones de temperatura, pH y de agentes oxido-reductores, que modifican sus propiedades; así, se logran conocer las cantidades necesarias para obtener los resultados de color deseados, no sólo en alimentos sino también en otros campos de aplicación (textil, farmacéutica, cosmética, etc.).

Las técnicas analíticas más usadas en la investigación de colorantes naturales son: la espectroscopia UV-visible y la cromatografía líquida de alta eficacia (CLAE) acoplada a espectrometría de masas. Con estas técnicas se ha podido conocer, que la grana cochinilla también contiene cantidades pequeñas de ácido kermésico, ácido flavokermésico y cuatro especies colorantes no identificados denominados como dcII, dcIII, dcIV y dcVII.^(11,12)

Las investigaciones sobre ácido kermésico son escasas y no se tiene información suficiente sobre sus propiedades, lo poco que se conoce sobre este colorante ha sido en su mayoría por las investigaciones sobre ácido carmínico. Debido a la falta de información bibliográfica respecto al estudio electroquímico del ácido kermésico, se ha tenido que acudir a sistemas análogos y a modelos quinónicos de carácter general para las siguientes consideraciones:

- La antraquinona y sus derivados, son fácilmente reducidos a antrahidroquinona (e incluso formación de dímeros) y la forma cetónica oxantrona, obteniéndose una amplia variedad de productos, según las condiciones en las que se lleve a cabo la reacción.
- Al estudiar la reducción de antraquinona y sus derivados, debe tenerse en cuenta que la reducción parcial de los grupos quinónicos a menudo tiene gran influencia sobre la estabilidad de los grupos unidos al anillo.⁽¹³⁾

Las técnicas electroanalíticas son capaces de proporcionar límites de detección bajos y una abundante información de caracterización química, que describe a los sistemas tratables electroquímicamente. Tal información incluye la estequiometría y la velocidad de transferencia de masa, así como las constantes de velocidad y de equilibrio de reacciones químicas.

2.1.1. Colorantes

Un colorante es cualquier sustancia química que transfiere o presta color a otras sustancias. El color es una propiedad de la materia relacionada con el espectro de la luz y su capacidad para emitir cantidades de energía que estimulen la retina del ojo (depende de la sensibilidad individual); se percibe cuando la energía tiene longitudes de onda entre 380 y 780 nm, intervalo conocido como luz visible. Cuando en una sustancia existen sólo enlaces saturados o enlaces insaturados aislados, absorbe en la región ultravioleta (UV) del espectro electromagnético, por lo que se perciben incoloras.⁽¹⁾

En las moléculas que absorben radiación en la región visible, los electrones más externos ubicados en niveles basales se mueven a niveles de mayor energía, la energía absorbida es disipada mediante vibraciones, rotaciones, deformándose o emitiendo fotones que permiten obtener los espectros de emisión de la molécula cuando regresa a su estado basal. El color que observamos es la combinación de todas las longitudes de onda que la molécula no puede aceptar y que son rechazadas. Muchas de sus aplicaciones están relacionadas con la forma en que absorben o emiten luz.

Estas moléculas poseen agrupamientos de átomos que originan el comportamiento global, los grupos “cromóforo” y “auxocromo”. Generalmente el grupo cromóforo es insaturado y más susceptible de sufrir transiciones electrónicas al absorber radiación UV-Visible; los grupos carbonilo C=O, alcoxi C-O⁻, azo -N=N- y nitrito NO₂ son algunos ejemplos. El grupo auxocromo generalmente es saturado, al estar unido al grupo cromóforo altera la longitud de onda y la intensidad de la absorción electrónica; como ejemplos se encuentran los grupos hidroxilo -OH, amino -NH₂ y halogenuro F, Cl, Br y I. ⁽¹⁴⁾

La física estudia los fenómenos visuales entre la luz y la materia, establece relaciones entre algunos parámetros medibles de la luz y las sensaciones visuales; caracteriza las radiaciones de acuerdo con su espectro (valor de la radiación en función de su longitud de onda). Isaac Newton aportó las primeras explicaciones de óptica del espectro del color con la descripción de sus experimentos, estudiando la desviación de la luz mediante un prisma. La dispersión de los colores que se obtienen a partir de la luz blanca permite comprender la compleja estructura de la luz natural. ⁽¹⁵⁾

Oponiéndose a Newton, Johann Wolfgang von Goethe en su Teoría de los Colores, sostuvo que el espectro continuo es un fenómeno complejo. Observó que con una mayor apertura del haz de luz se pierde el espectro; se manifiesta un borde de color rojizo-amarillo y el otro borde de color azul-cyan, con tonos de blanco entre ellos y el espectro sólo se plantea cuando estos bordes se acercan lo suficiente a la superposición de los colores. Manifestó que los colores hacen su aparición como fenómenos en la frontera entre la luz y la oscuridad.

Aunque las teorías de Goethe no fueron puestas nunca en práctica, debe de reconocérsele el mérito de haber planteado la contradicción de una teoría física absoluta frente a la concepción psíquica y subjetiva y las sensaciones luminosas. La radiación luminosa es un estímulo habitual del sistema visual, sin embargo, el color no puede ser reducido a un fenómeno físico ya que el dominio de las percepciones visuales es mucho más amplio que el inducido por la luz.⁽¹⁶⁾

2.1.2. Clasificación de colorantes

Los colorantes se dividen en naturales y sintéticos; los colorantes sintéticos se obtienen mediante procesos químicos industriales. Los colorantes naturales son de origen vegetal, animal o mineral, según su estructura química se clasifican en diferentes grupos: nitroso, nitro, azoico, estilbeno, difenilmetano, triaril metano, xanteno, acridina, quinolina, metina, tiazol, indamina, indofenol, azina, oxazina, tiazina, aminocetona, hidroxicetona, antraquinona, indigoide, ftalocianina entre otros de menor uso.⁽¹⁷⁾

Los nombres químicos de los colorantes suelen ser complicados, los nombres descriptivos o comunes suelen ser más utilizados que los sistemáticos que dan información sobre la estructura química, por lo que surgió la necesidad de clasificar a los colorantes. El Color Index (CI) es una clasificación proveniente de la Society of Dyers and Colourist en el Reino Unido y en Estados Unidos de la American Association of Textil Chemists and Colorists. Es un compendio que se edita constantemente; a cada colorante se le asigna un nombre genérico y un número de constitución de cinco dígitos basado en su estructura, color base, acción y comportamiento.⁽¹⁸⁾

Otras clasificaciones para el uso de colorantes son las de la Food and Drug Administration, que asigna un número acompañado de los términos FD&C para colorantes autorizados para su uso en alimentos, medicamentos y cosméticos; D&C para agentes colorantes de cosméticos y medicamentos. El número E que les asigna la Unión Europea, el sistema de clasificación Farbstofftabellen de Gustav Schultz (números S) y el numero CAS de la American Chemical Society, también son usuales.⁽¹⁾

2.1.3. Colorantes en alimentos

Los colorantes alimentarios son considerados aditivos modificadores de las características organolépticas y son utilizados para mejorar la presentación de un producto, estandarizar el color entre lotes y para una identificación visual por parte del consumidor; están asociados a un conjunto de sensaciones como el sabor y el olor.

Entre los colorantes naturales más usados en la industria alimentaria se encuentran los carotenoides, seguidos por el pigmento rojo remolacha y el color caramelo. El amarillo y el rojo son los colores más empleados sobre todo para productos dulces, bebidas, postres en polvo, cereales, helados y productos lácteos, donde el rojo cochinilla es ampliamente utilizado.⁽¹⁹⁾

Se emplean diferentes materiales sintéticos y naturales para colorear los alimentos. Dentro de los naturales se encuentran diferentes materias primas de las que se obtienen pigmentos por medio de extracciones o se emplean secas y molidas. La bixina del achiote, las betalaínas del betabel, la curcumina de la cúrcuma, luteína del cempasúchitl, clorofila de plantas verdes y el ácido carmínico de la cochinilla son algunos ejemplos de pigmentos naturales.

Los pigmentos relacionados con alimentos se pueden dividir en ocho categorías:⁽¹⁰⁾

1. Carotenoides
2. Clorofilas
3. Antocianinas
4. Flavonoides
5. Betalaínas
6. Taninos
7. Mioglobina y hemoglobina
8. Otros.

Estos pigmentos se encuentran en el protoplasma de las células vegetales, dentro de los organelos llamados plástidos, cuando son solubles están disueltos en vacuolas dentro de la célula, facilitando su separación y aislamiento; algunos son solubles en disolventes orgánicos. Los pigmentos de células animales incluyen a las proteínas conjugadas mioglobina y hemoglobina que dan color rojo a los tejidos y a la cochinilla cuyo principio colorante es el ácido carmínico.

Los colorantes permitidos, según la norma oficial mexicana NOM-119-SSA1-1994 para uso alimenticio, son los siguientes: aceite de zanahoria, achiote (extracto de semillas de *Bixa orellana*), azafrán, beta-apo-8-carotenal, betabel deshidratado, beta-caroteno, cantaxantina, color caramelo, clorofila, cochinilla, cúrcuma (polvo y oleoresina), extracto de color de uva, extracto de cáscara de uva, harina de semilla de algodón, jugo de frutas, chile en polvo, oleoresina de chile, riboflavina, riboflavina 5 fosfato, éster apocarotenoico y xantofilas.⁽⁷⁾

2.2. ACIDO CARMÍNICO

El ácido carmínico o ácido antraquinón-7-glucopiranosil-3,5,6,8-tetrahidroxi-1-metil-2-carboxílico (figura 1) es el componente principal del extracto de la grana cochinilla (*Dactylopius coccus Costa*). La cochinilla hembra es la materia prima para la fabricación del colorante rojo natural, llamado comercialmente carmín de cochinilla.⁽²⁰⁾

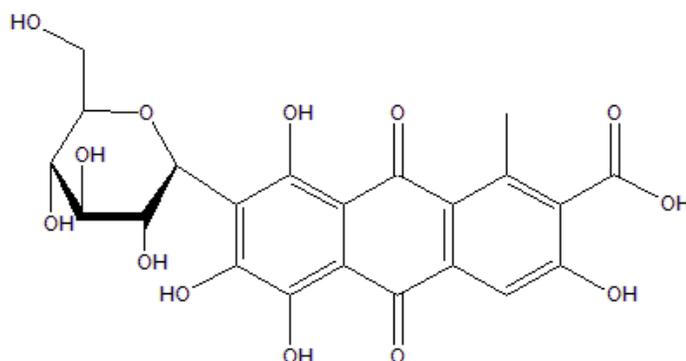


Figura 1. Estructura del ácido carmínico

La cochinilla es un insecto que vive en tres tipos de cactáceas principalmente: la *Opuntia Ficus Indica* o nopal de Castilla, la *Opuntia Tomentosa* o nopal de San Gabriel y el de San Cristóbal; se alimenta de la savia de las pencas del nopal. Existen dos tipos de cochinilla, silvestre y fina. La silvestre es un complejo de ocho especies que crece como una plaga en las huertas de nopal; su colorante es de mala calidad y de baja concentración (figura 2).⁽²⁾



Figura 2. Izquierda: cosecha de grana cochinilla. Derecha: grana cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa).

Este insecto presenta dimorfismo sexual, es decir, la hembra y el macho son morfológicamente diferentes. El ciclo de vida del macho es alrededor de 60 días en promedio a partir del ciclo larvario y al terminar el proceso de fecundación viven alrededor de 3 días, en su etapa adulta. Son más pequeños que las hembras, miden alrededor de 2.2 mm, presentan alas que les permite trasladarse de una paleta a otra para reproducirse. Las hembras no tienen alas (ápteras), son inmóviles y de mayor tamaño, en promedio 6 mm y tienen forma oval.

El proceso de fecundación se da todo el año, el ciclo biológico, del estado de huevecillo hasta hembra adulta, pasan de 90 a 120 días dependiendo de la temperatura principalmente. Después de ser fecundada, deposita de 100 a 350 huevecillos viables por hembra, al terminar el cuerpo se contrae hasta que muere. Excreta una materia blanca cerosa que cubre a los huevos y los protege del sol y la lluvia; es común encontrar de 7 a 20 hembras por cada macho.⁽¹¹⁾

El ciclo vital del insecto y su comportamiento, dependen de factores ambientales como la humedad, la luz y temperatura, con la que guarda una relación directa, a mayor temperatura se acorta el ciclo biológico, mientras que a menor temperatura se alarga. Los intervalos de temperatura promedio son de 18 a 28°C, 60% de humedad relativa y foto-períodos de 12 horas

luz y 12 horas de oscuridad. La temperatura óptima para el desarrollo poblacional de grana fina es de 24°C en cladidos de *Opuntia ficus indica* o nopal de Castilla.^(21,22)

Cuando han alcanzado su desarrollo las cochinillas, se recogen con un cepillo y se colocan al sol o se secan en hornos. En el procesamiento, dependiendo del método de producción (a la intemperie o en microtúnel) y del tipo de extracción, se halla hasta 24% de ácido carmínico (en peso seco) en las hembras adultas de las cochinillas. El colorante es rojo, pero se pueden obtener tonos carmín escarlata y violeta variando el pH y el mordiente, para formar lacas con diferentes cationes (carmines).⁽²³⁾

En productos comerciales, el agente colorante está asociado con cationes como amonio, calcio, potasio o sodio, solos o en combinación, y estos cationes pueden estar presentes también en exceso. Los productos comerciales pueden contener también material proteínico y también pueden contener carminatos libres o un pequeño residuo de cationes aluminio no ligados. El carmín es utilizado para teñir y pigmentar una amplia gama de productos industrializados, básicamente alimentos, cosméticos, fármacos y textiles.^(2,3)

2.2.1. Antecedentes históricos

La cochinilla es un insecto que produce un colorante importante utilizado para teñir lana y seda antes del desarrollo de la industria de colorantes sintéticos. La aplicación de la grana cochinilla como pigmento es una actividad milenaria en América; son México y Perú los países que dan origen a la producción de cochinilla. En el México precolombino, era un producto entregado como tributo de los pueblos vasallos a los mexicas. En Perú, se han encontrado restos de textiles que provienen de la cultura Inca en Nazca y Paracas, los cuales fueron teñidos con ácido carmínico.

Los orígenes del cultivo de la grana se remontan hacia el siglo X d.C.; Clavijo y Humboldt, científicos, exploradores y naturalistas de fama mundial, suponen que fue durante el llamado período Tolteca. Las culturas Tolteca y Teotihuacana utilizaban la grana cochinilla para teñir telas,

pintar esculturas, edificios públicos y religiosos, códices, murales y también para dar color a los panes ceremoniales. Se tiene conocimiento de que las mujeres tlaxcaltecas empleaban este pigmento para sus afeites (cosméticos); de igual forma era utilizada para el teñido de mantas y cintas de lana. Nocheztli es el nombre indígena náhuatl de la grana cochinilla, que se traduce como sangre de tuna (nochtli, significa tuna, extli, sangre).⁽²⁾

Desde la época prehispánica y en la colonial, el cultivo de la grana tuvo una enorme importancia económica y social; después de las exportaciones a España del oro y la plata, la cochinilla ocupó el tercer lugar en importancia. Sin embargo, las ganancias obtenidas de la venta de la grana, no alcanzaban a beneficiar a los productores directos. La cochinilla se enviaba a España por toneladas y de ahí, la vendían a los otros países de Europa; llegó hasta China y Turquía, casi por todo el mundo era apreciada.

El rojo carmínico se convirtió en una fuerte competencia para los colorantes europeos, como el kermes (ácido kermésico), pues con él se teñía la ropa de reyes, nobles y del clero; incluso se utilizaba para pintar artesanías y tapices. La grana cochinilla, por su gama de colores y brillantez, llegó a constituir un símbolo de poder en Europa. Con su color fueron teñidas capas de altos eclesiásticos, ropaje de aristócratas, las famosas casacas rojas de la armada británica etc. Se usó para colorear lanas y sedas; como ingrediente de medicamentos, colorante de cosméticos, pasteles, bebidas, mantequillas, dulces, así como pinturas para artistas.⁽²⁴⁾

El primer envío a España se efectuó en 1526. La costumbre de algunos escritores españoles del siglo XVI de llamar “preciado fruto” o “semilla” al referirse a la grana, determinó que la mayoría de los europeos pensarán en un producto de origen vegetal. Esta confusión fue fomentada por España, con el objeto de dificultar la identificación del colorante, salvaguardando así el secreto de su monopolio. Debido a las anomalías en la comercialización de la grana, así como el maltrato a los indígenas y el abuso de los alcaldes mayores, hacia 1660 se iniciaron sublevaciones en Michoacán y Tlaxcala, donde los naturales despedazaron y quemaron las nopaleras para no ser esclavos.

A partir de la guerra de Independencia, se produjo el derrumbe del monopolio español con la subsecuente proliferación y aumento de zonas productoras de grana a escala mundial, el interés en su cultivo se perdió cuando los productores se vieron liberados de la presión colonial que los forzaba a producirla para abastecer a la metrópoli, lo que colocó a México en situación desfavorable respecto de las Islas Canarias, Perú y Guatemala, pero el decaimiento de la producción de grana vino con la aparición de tintes artificiales descubiertos en Europa a finales del siglo XIX.

El trabajo manual, laborioso y delicado de la cría del insecto no podía competir con la nueva industria, y con el abatimiento de los costos de producción; el tinte entró en desuso y desaparición casi totalmente durante el siglo XX. Es hasta los años 70 del mismo siglo, que se reinicia el cultivo intensivo de la grana a nivel mundial, impulsado por la regulación sanitaria que prohíbe el uso de colorantes sintéticos rojos. Algunos países que tradicionalmente eran productores se dieron a su cultivo; Perú es el país que logra la más alta producción de grana, una parte de ella para exportarla como cochinilla seca y la otra destinada a la industrialización, cuenta con cinco o seis industrias que transforman la cochinilla en carmín y lo exportan a todo el mundo.

Actualmente aún se utiliza la cochinilla para teñir textiles de lana, alimentos, cosméticos y medicamentos. La revaloración de productos naturales frente a los artificiales, así como las investigaciones sobre sus propiedades y subproductos como el referido en el presente estudio, el ácido kermésico, abren posibilidades para promover la cría de grana cochinilla en México. Los productores nacionales requieren del tinte para sustituir los colorantes tóxicos que se emplean en alimentos que la normatividad sanitaria no permite.^(2,24)

2.2.2. Propiedades

El ácido carmínico es estable a la exposición a la luz, a los tratamientos térmicos y a la oxidación. El grupo carboxilo $-\text{COOH}$ y los cuatro grupos $-\text{OH}$ fenólicos de las posiciones C-3, C-5, C-6 y C-8 desprotonables, contribuyen a los cambios de color de acuerdo al pH de la disolución,

anaranjado a pH=3.0, rojo a pH=5.5 y púrpura a pH=7.0.⁽²²⁾ Es un ácido poliprótico que presenta valores de $pK_{a1} = 3,13$; $pK_{a2} = 6,20$ y $pK_{a3} = 8,94$, respectivamente en EtOH/H₂O.⁽²⁵⁾

El ácido carmínico, de fórmula química condensada C₂₂H₂₀O₁₃, es soluble en agua caliente, alcohol y en ácido sulfúrico diluido. El carmín de cochinilla es soluble en los hidróxidos y carbonatos alcalinos dando soluciones de color violeta oscuro. Sus propiedades físicoquímicas se enlistan a continuación:⁽⁷⁾

- Sinónimos: CI Natural red 4, cochinilla, ácido carmínico, carmín.
- Clase: Antraquinona.
- Números de Códigos: CAS 1260-17-9, CI (1956) 75470, Schultz (1931) 1381, Número CE 120
- Nombre químico: Sales alcalinas y lacas alumínicas del ácido carmínico (el principio colorante)
- Peso Molecular: Acido carmínico: 492,39
- Color: Rojo
- Solubilidad: sus sales alcalinas son solubles en agua (30 gL⁻¹ a 25 °C) y disolventes alcohólicos.

Identificación

- Espectroscopia, máximo en solución acuosa amoniacal a aproximadamente 518 nm
- Máximo en solución diluida de ácido clorhídrico a aproximadamente 494 nm

Los requisitos de pureza a estudiar, que debe cumplir para su uso en alimentos son los siguientes:

Para el caso del extracto de cochinilla:

- Arsénico (como As); no más de 1 mgKg⁻¹
- Plomo (como Pb); no más de 10 mgKg⁻¹
- pH; no menos de 5,0 y no más de 5,5 a 25°C
- Proteína (N X 6,25); no más de 2,2%

- Sólidos totales; no menos de 5,7 y no más de 6,3%
- Alcohol metílico; no más de 150 mgKg⁻¹
- Ácido carmínico; no menos de 1,8%

Para el caso del Carmín:

- Arsénico (como As); no más de 1 mgKg⁻¹
- Plomo (como Pb); no más de 10 mgKg⁻¹
- Materia volátil (a 135°C por 3 horas); no más de 20%
- Cenizas; no más de 12%
- Valor de pH 1.6 (10 gL⁻¹, H₂O, 20 °C)
- Ácido carmínico; no menos del 50%

2.2.3. Regulación

Desde los años sesenta ha sido muy cuestionada la utilización de ciertos colorantes sintéticos, sobre todo aquellos empleados en la industria de alimentos, cosméticos y fármacos, debido a su efecto nocivo para el hombre. Esto ha motivado que se inicien investigaciones y restricciones sobre el uso de estos colorantes y que a partir de 1976, Estados Unidos prohibiera la utilización del rojo No. 2 conocido como amaranth. Esto ha ocasionado que la prohibición de ciertos colorantes sintéticos aumente; un ejemplo es Suecia, en donde se dejó de utilizar la eritrosina (E121) y la cantaxantina (E161).

Recientemente la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) de los Estados Unidos ha prohibido la utilización del rojo No. 3 después de varios años de debates; sin embargo, las industrias relacionadas con la elaboración de estos colorantes establecen que las cantidades utilizadas al ser consumidas por el ser humano no ocasionan ningún tipo de cáncer, respecto a esto la FDA se apoyó en la ley que indica que cualquier aditivo que tenga alguna posibilidad de ser cancerígeno debe ser restringido.⁽¹⁾

A nivel internacional, el color carmín obtenido de la grana cochinilla ha sido certificado y aprobado por The Code of Federal Regulation de Estados Unidos de América, así también como por la Unión Europea ante el daño a la salud que han causado los colorantes sintéticos. De esta manera, el carmín es el único tinte aceptado para su uso alrededor de los ojos. No se ha encontrado evidencia de carcinogenicidad, no es tóxico pero la FAO/MS han asignado un IDA para el ácido carmínico de 5 mgKg^{-1} de peso corporal.⁽⁶⁾

2.2.4. Producción

El mercado de la grana cochinilla es inestable, en el 2007 la Organización Mundial de Comercio (OMC) estimó el crecimiento en la demanda de cochinilla a nivel mundial en una tasa media alrededor del 6%, sin embargo, en la actualidad se ha visto afectada por la crisis financiera mundial en 2008, en el que la demanda decayó un 2%. De igual modo, los precios fluctúan mucho llegando incluso a alcanzar hasta 100 dólares por kilogramo de cochinilla seca; en otras épocas puede descender hasta 20 dólares, pero en general, para la comercialización de grandes volúmenes se puede colocar desde 40 dólares por kilogramo.⁽²⁷⁾

La demanda mundial estimada de cochinilla y sus productos derivados, es de 1100 toneladas al año. Perú es el principal productor con una participación en el mercado internacional cerca del 80%, seguido por las Islas Canarias con el 10 %, Chile 8% y Bolivia con el 2%. México actualmente no figura como productor en el mercado de la cochinilla. En el país existe tradición, cultura e interés para desarrollar el cultivo de la cochinilla, no obstante los problemas de productividad y eficiencia lo restringen.^(2, 27)

El total de la producción mexicana se destina al consumo local para usos artesanales, siendo Puebla, Chiapas, Edo., de México y Oaxaca las entidades que presentan la mayor demanda. En México no existen plantas transformadoras de cochinilla en ácido carmínico (carmín), por lo que la totalidad de este colorante natural que requiere la industria nacional se importa. El territorio nacional posee amplias zonas semisecas y subhúmedas que pueden producir grana cochinilla.

Las regiones productoras potenciales de nopal del país, con las condiciones adecuadas de temperatura y humedad relativa, se encuentran en los estados de Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Durango, Zacatecas, San Luis Potosí, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo y México, la Península de la Baja California y el noroeste de Sonora, Tehuacán en Puebla, Cuicatlán en Oaxaca, la cuenca del Río Balsas en Guerrero y Michoacán, la Península de Yucatán y la región central de Chiapas.⁽²⁾

Aun cuando en México, desde hace más de diez años se han realizado trabajos de investigación biológica, acerca del comportamiento de la cochinilla, de su ciclo de vida, de la manera óptima de obtener cultivos eficientes y se han establecido campos experimentales, no se ha logrado el impulso de la producción comercial; sin embargo, se han realizado proyectos dirigidos a fortalecer la producción de cochinilla en México.

La producción de cochinilla requiere pasar de una fase de explotación doméstica a una de escala comercial que permita un mayor desarrollo productivo y económico comercial; debe darle impulso a su industrialización como carmín. Existe un mercado potencial a nivel nacional e internacional constituido por Estados Unidos, Japón, Francia, Alemania, Bélgica, y Reino Unido que requieren de la grana cochinilla y que no cuentan con una oferta regular.⁽²¹⁾

2.2.5. Productos y usos

La grana cochinilla en estado seco es utilizada para elaborar diversos pigmentos como extracto acuoso, extracto alcohólico acuoso, carmín y ácido carmínico. Dentro del mercado de pigmentos tiene el código E-120. El carmín es una laca aluminocálcica del ácido carmínico con un contenido no menor del 50% de materia colorante; pueden obtenerse diferentes tonalidades de acuerdo a la sal que se utilice en su elaboración. Su uso se ha extendido a diversas industrias, algunos ejemplos se muestran en la tabla 1.^(21,22)

Tabla 1. Aplicaciones del carmín en diferentes industrias

COSMÉTICOS	ALIMENTOS	FÁRMACOS	OTROS
Lápiz labial	Caramelos	Medicamentos	Textil
Rubor	Dulces	Dentífricos	Tinción
Sombras para ojos	Mermeladas	Comprimidos	Cerámica
Maquillaje	Confituras	Anestésicos	Histología
	Gomas de mascar	Jarabes	Cerámica
	Helados	Recubrimiento de	Tinciones
	Salchichas	tabletas	Citología (frotis no fijados)
	Vinagres	Soluciones nasales	Oleo
	Mieles	Suspensiones orales	Litografía
	Licores	Sedantes	Acuarelas
	Surimi	Determinación de	Tintes
	Leches	volumetría de fosfatos	Papel coloreado
	Bebidas en polvo		Teñido de flores
	Condimentos		Imprenta
	Salsas		
	Bebidas alcohólicas y no alcohólicas		
	Lácteos		
	Postres		
	Paté		
	Galletas		

El ácido carmínico, presenta una buena capacidad para complejar metales pesados como Al, Ba, Fe, Mg, Pb, Hg, U, Zn, lo cual produce carmines de diferente tonalidad, por lo que es explotado en la manufactura de éstos. Esta característica lo convierte en un reactivo útil para la determinación espectrofotométrica de varios elementos (Th, Ga, In, U y B). Otra propiedad que presenta este ácido, es el dar coloración a líquidos con respecto al pH, como por ejemplo: refrescos, jarabes, productos farmacéuticos y titulación de álcalis.⁽²²⁾

El ácido carmínico es una antraquinona que tradicionalmente ha sido usada como purgante y vermífugo (vermicida, antiparasitario); posee propiedades contra los parásitos intestinales. Esto puede sugerir el uso de esta antraquinona como repelente de insectos, tanto de uso agrícola y habitacional, como del cuidado personal, ya que las quinonas también pueden funcionar como bloqueador solar, lo que nos lleva a especular en un producto con doble propósito: repelente contra insectos y protector contra los rayos ultravioleta.

Sobre innovaciones en la aplicación del pigmento como tal, se tiene como ingrediente de lacas para muebles y como revelador de larvas y pupas de lepidópteros sobre productos

hortícolas de exportación, para verificar el control de los mismos. El carmín-litio se ha empleado para el teñido de ácidos nucleicos. Las ideas para nuevas aplicaciones de la grana cochinilla continuamente surgen y amplían el horizonte de uso de este insecto, aparecen para diferentes áreas, como lo es el uso del pigmento en el teñido de la placa dentó bacteriana, para su posterior localización y eliminación.^(3,20)

2.3. ÁCIDO KERMÉSICO

El ácido kermésico ó ácido antraquinon-3,5,6,8-tetrahidroxi-1-metil-9,10-dioxo-2-carboxílico (Fig. 3), es el producto metabólico de la hembra del *Kermococcus ilicis* L. (Cóccidos), un insecto hemíptero semejante a la grana cochinilla que se cría en el roble *Quercus coccifera* L.; también fue llamado insecto de granos escarlata, asociado al colorante rojo que se obtiene de los cuerpos secos molidos, un polvo carmesí (palabra derivada de kermes), el cual se mezcla con alumbre para formar un tinte carmín.⁽²²⁾

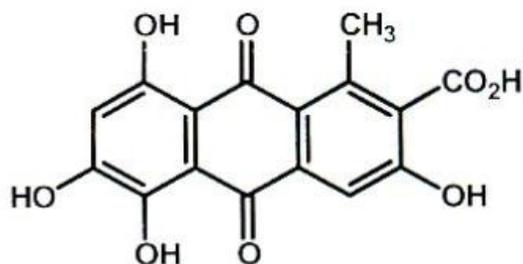


Figura 3. Estructura del ácido kermésico

Este tipo de insecto vive en el roble de kermes, abundante en el Mediterráneo y sur de Europa, perteneciente a la familia de las fagáceas, de no más de 3 m de altura y de hoja perenne de 1,5 a 4 cm de largo, de color verde oscuro y brillantes, bastante dura y con los márgenes punzantes. Su fruto, la bellota, es de calidad muy inferior a la de la encina, pero sirve de alimento al ganado porcino (figura 4).

La hembra del kermes no tiene alas, es del tamaño de un guisante pequeño, de color marrón rojizo, y está cubierto con un polvo blanquecino. Se produce una vez al año, a partir de mediados de mayo hasta mediados de junio; las hembras adultas (5-8 mm), de color rojo oscuro son fecundadas por los machos, los huevos son recogidos y expuestos a los vapores del vinagre para evitar su incubación.⁽⁶⁾



Figura 4. Izquierda: roble de kermes, *Quercus coccifera*. Derecha: grana de kermes (*Kermococcus ilicis*)

Los colores de la grana kermes fueron llamados Escarlata y carmesí, uno de los más antiguos tintes de los que se tenga registro y cuyas tinciones parecen más duraderas que las de la cochinilla, como se demuestra por el brillo de los viejos tapices de Bruselas y algunos tapices flamencos. Tenía un lugar limitado en el mercado comercial destinado a la nobleza y el clero.

En comparación con colorantes como la rubia, el colorante producido por el insecto kermes estuvo presente en forma menos concentrada, por lo que era relativamente caro al tener que utilizar mayor cantidad de tinte. Actualmente esta en desuso; fue desplazado por la grana cochinilla proveniente de América, aunque se consigue en casas comerciales especializadas en pigmentos tradicionales.⁽²²⁾

2.3.1. Antecedentes históricos

El kermes es conocido en el Oriente desde los tiempos de Moisés, con el nombre de “tola” y por los griegos como “coccus”. Se ha empleado desde tiempos inmemoriales en la India para teñir seda y telas de color rojo marrón oscuro; también fue utilizado por los tintoreros antiguos griegos y romanos, que lo usaban para el tinte púrpura de las capas de los generales. Los españoles pagaban con esos granos de kermes la mitad de su tributo a la romanos; los producidos en Sicilia fueron los peores y los de Portugal fueron los mejores.⁽⁶⁾

La palabra kermes (o chermes) significa "insecto de color rojo" en persa; fue un tinte muy apreciado como fuente de colorante rojo oscuro parecido a la sangre, conocido como escarlata o carmesí (del inglés crimson) que ha sido mencionado en la Biblia, en el Génesis (38:28), también se hace referencia en el viejo testamento por el profeta Isaías, cuando utiliza la palabra carmesí para simbolizar pecado. Fue llamado vermiculus en Latin y vermilion en Francés, nombre que después se transfirió al color rojo del sulfato de mercurio.⁽²⁰⁾

Tuvo una gran demanda en toda Europa, para colorear las telas de la realeza, la nobleza, y líderes de la iglesia. Durante varios siglos fue el tinte de insectos más importante que se utilizó en tejidos a mano, alfombras orientales, para teñir seda y algodón. Miguel Ángel utilizó carmín de kermes en sus pinturas; fue el tinte que prestaba distinción a los uniformes de los casacas rojas británicos, los húsares, los turcos y la Real Policía Montada del Canadá. En el siglo XIV y principios del XV, el escarlata brillante fue el color más estimado para los textiles de lana de lujo en los Países Bajos, Inglaterra, Francia, España e Italia.

Después de la conquista española del imperio azteca, la cochinilla mexicana, que produce un tinte más fuerte y por lo tanto podría ser utilizado en pequeñas cantidades, sustituye a los tintes rojos de uso general en Europa. El colorante de cochinilla fue muy bien recibido en el viejo continente, desplazando al obtenido del kermes.^(6,26)

2.3.2. Propiedades

El ácido kermésico tiene la fórmula química molecular $C_{16}H_{10}O_8$, es una antraquinona polisustituída similar al ácido carmínico sin el grupo O-glucosídico, por lo que es estable a la exposición a la luz, a los tratamientos térmicos y a la oxidación. Cristaliza en rosetas de color rojo a partir del ácido acético, presenta un punto de fusión mayor a 320 °C. Es soluble en agua y alcohol. El color de la solución del ácido kermésico, no es estable a los cambios de pH pasando de rojo a pH ácido y violeta a pH básico (NaOH).

Las propiedades físicoquímicas reportadas para el ácido kermésico son escasas, se enlistan a continuación:^(22,26)

- Sinónimos: CI 75460, Natural red 3, Kermes (dye)
- Número CAS: 18499-92-8
- Clase: Antraquinona.
- Peso Molecular ácido kermésico: 330,25
- Color: Rojo escarlata brillante

Identificación

- Espectroscopia, máximo 276, 312, 498 nm

Los requisitos de pureza que debe cumplir para su uso en alimentos no están reportados; sin embargo, pueden tomarse los parámetros del ácido carmínico como referencia. Del mismo modo, no hay una regulación para este colorante natural, tampoco hay estudios de toxicidad que contraindiquen el consumo humano.

2.3.3. Producción

La producción de ácido kermésico en Europa se vio afectada por la grana cochinilla americana. Se comercializa como pigmento en laboratorios especializados de investigación de sustancias químicas, con un precio de 175 dólares un frasco de 5 mg y 1400 dólares la presentación de 50 mg.⁽²⁴⁾

2.3.4. Productos y usos

El principal uso del ácido kermésico, es como tinte escarlata brillante, puede sustituir en varias aplicaciones al ácido carmínico con lo que sus posibles usos están sujetos a su disponibilidad y precio.

Alchermes, es un tipo de licor Italiano, que puede haberse originado en Florencia, se prepara con alcoholes de infusión con azúcar, canela, clavos, nuez moscada molida, vainilla y otras hierbas y sustancias aromáticas. Su característica más llamativa es el color del escarlata, obtenido por la adición de kermésico (de ahí su nombre). Algunas variantes de esta bebida se comercializan con un contenido alcohólico de entre 21 a 32%.⁽²²⁾

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Estudiar el comportamiento químico fundamental del ácido kermésico obtenido por hidrólisis ácida de ácido carmínico extraído de la grana cochinilla (*Dactylopius coccus costa*).

3.2 Objetivos particulares

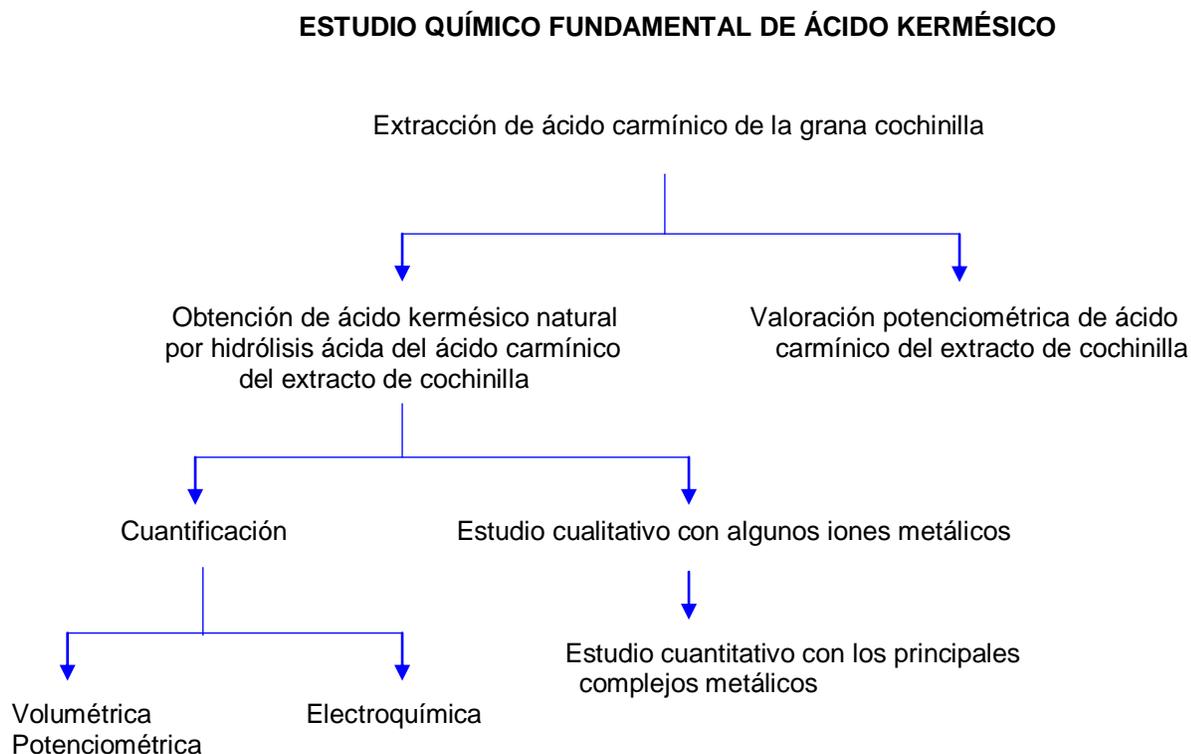
- Obtener ácido kermésico a partir de grana cochinilla.
- Estudiar las propiedades químicas del ácido kermésico.
- Realizar un estudio electroquímico fundamental del ácido kermésico.
- Formar complejos entre algunos cationes metálicos y el ácido kermésico, conocer su comportamiento electroquímico y determinar las estequiometrías con clacio, aluminio y magnesio.

4. METODOLOGÍA

La metodología general del desarrollo experimental del presente estudio, se muestra en el esquema de la figura 5; se realizó en base a los siguientes puntos:

- Extraer el ácido carmínico de la grana cochinilla.
- Cuantificar el ácido carmínico extraído por métodos volumétricos y electroquímicos.
- Obtener ácido kermésico a partir de ácido carmínico extraído.
- Cuantificar el ácido kermésico obtenido por métodos volumétricos y electroquímicos.
- Realizar pruebas a la gota con diferentes cationes metálicos.
- Estudiar electroquímicamente ácido kermésico por polarografía clásica (PC).
- Analizar electroquímicamente los complejos formados entre el ácido kermésico con calcio, aluminio y magnesio.
- Determinar la o las estequiometrias de los complejos formados entre ácido kermésico y calcio, aluminio y magnesio.

Figura 5. Metodología general



4.1. REACTIVOS

REACTIVO	PUREZA	MARCA COMERCIAL
Ácido sulfúrico	R. A.	Merck
Hidróxido de bario	R. A.	Bakers Analyzed
Nitrato de bario	R. A.	Mallinckrodt
Biftalato de potasio	R. A.	Mallinckrodt
Hidróxido de sodio	R. A.	Q. Meyer
Cloruro de calcio	R. A.	J. T. Baker
Sulfato ferroso	R. A.	J. T. Baker
Cloruro de aluminio	R. A.	Mallinckrodt
Cloruro de estroncio	R. A.	Mallinckrodt
Cloruro estanoso	R. A.	J. T. Baker
Cloruro de zinc	R. A.	Merck
Nitrato de plata	R. A.	Merck
Cloruro de manganeso	R. A.	Merck
Sulfato de magnesio	R. A.	Merck
Nitrato de Cobre (a partir de cobre electrolítico)	R. A.	
Ácido nítrico	R. A.	J. T. Baker
Solución reguladora pH 10 (ácido bórico / cloruro de potasio hidróxido de sodio)	R. A.	Merck
Triton X-100™	R. A.	Aldrich
Acetato de etilo	Q.P.	
Fenolftaleína	R. A.	Hycel
Nitrógeno de alta pureza	99.9%	Praxair
Silica gel	R. A.	Merck
Agua destilada y desionizada		
Ácido carmínico	87%	Aldrich
Etanol absoluto anhidro	99.7 %	J. T. Baker

4.2. EQUIPO

- Rotavapor –R Büchi
- Polarógrafo Radiometer Analytical MDE 150
- Electrodo de referencia: Ag/AgCl/KCl_{aq} 3M tipo TR020
- Electrodo auxiliar: Platino tipo TM020
- Electrodo de trabajo: Electrodo de gota de mercurio (EGM)
- pH metro 715 Metrohm
- Balanza analítica Mettler AE240
- Parrilla de agitación y calentamiento Thermolyne

4.3. OBTENCIÓN Y ESTUDIO DE ÁCIDO KERMÉSICO

4.3.1. Extracción de ácido carmínico de la grana cochinilla

El ácido carmínico es el componente principal del extracto de la grana cochinilla (*Dactylopius coccus Costa*), se obtuvo al hervir 100 g de grana cochinilla mexicana comercial marca “ALTECSA”. Se realizaron 5 extracciones con aproximadamente 300 mL de agua en ebullición durante aproximadamente 45 minutos. El extracto se concentró en un rotavapor y se llevó a un aforo de 250.0 mL con agua destilada; se burbujeó nitrógeno para crear una atmósfera inerte y evitar el crecimiento de hongos.

4.3.2. Cuantificación de ácido carmínico

La cuantificación se realizó mediante una valoración potenciométrica del ácido carmínico con una disolución de hidróxido de sodio; se hicieron mediciones directas con un pHmetro calibrado utilizando dos disoluciones amortiguadoras de pH 4 y 7, siguiendo las indicaciones del manual.

Para la valoración se tomó una alícuota de 10.0 mL de extracto de cochinilla diluido 1:10 en etanol al 50% (el etanol tiene también una constante dieléctrica grande 24.3; en esta mezcla de

disolventes se definen mejor los puntos de equivalencia) y se utilizó una disolución, previamente valorada de NaOH 0.0933 M.⁽²⁹⁾

En la valoración de la disolución de hidróxido de sodio se empleó una disolución de biftalato de potasio (como patrón primario), preparada con biftalato previamente secado en estufa a 110 °C alrededor de 1.5 h., y disuelto en agua destilada; se agregó una gota de fenolftaleína como indicador.

4.3.3. Hidrólisis del ácido carmínico para obtener ácido kermésico

Para la obtención del ácido kermésico se sometió el ácido carmínico a una hidrólisis ácida. Allevi et al.⁽³⁰⁾, propusieron hidrolizar el enlace glucosa-ácido carmínico con ácido sulfúrico al 60%; sin embargo, en estas condiciones se descompone el ácido carmínico y se forman otros compuestos que no son de interés en el presente estudio, por lo que se utilizó ácido sulfúrico al 2% en 100 mL del extracto de cochinilla y se dejó durante 15 minutos en ebullición con agitación, eliminando así la glucosa de la estructura quinónica del ácido carmínico.⁽³¹⁾

4.3.4. Obtención de ácido kermésico libre de glucosa

El ácido kermésico, producto de la hidrólisis, contenía restos de materia orgánica (proteínas principalmente) que se eliminaron filtrando por gravedad la disolución con papel Whatman No. 42. Debido a las condiciones ácidas empleadas en la obtención del ácido kermésico, se adicionaron 7.664 g hidróxido de bario con la finalidad de separar los sulfatos provenientes del ácido sulfúrico y aumentar el pH alrededor a 3 (ver anexo 8.2, pág. 82); el sulfato de bario se sometió a varios lavados para recuperar más kermésico y se llevó a un aforo de 100.0 mL.

Para separar el ácido kermésico de la glucosa en disolución se añadió nitrato de bario (para evitar variar el pH) y se precipitó kermesiato de bario; se separó por decantación el precipitado de la disolución que contenía a la glucosa. El kermesiato de bario se trató con ácido sulfúrico al 1% para tener libre al ácido kermésico y poder cuantificarlo por potenciometría.

4.3.5. Cuantificación de ácido kermésico

Para la cuantificación del ácido kermésico se realizó una valoración potenciométrica acido-base con una alícuota de 5.0 mL de una dilución 1:10 en etanol al 50% con NaOH 0.0933 M en el pHmetro previamente calibrado.

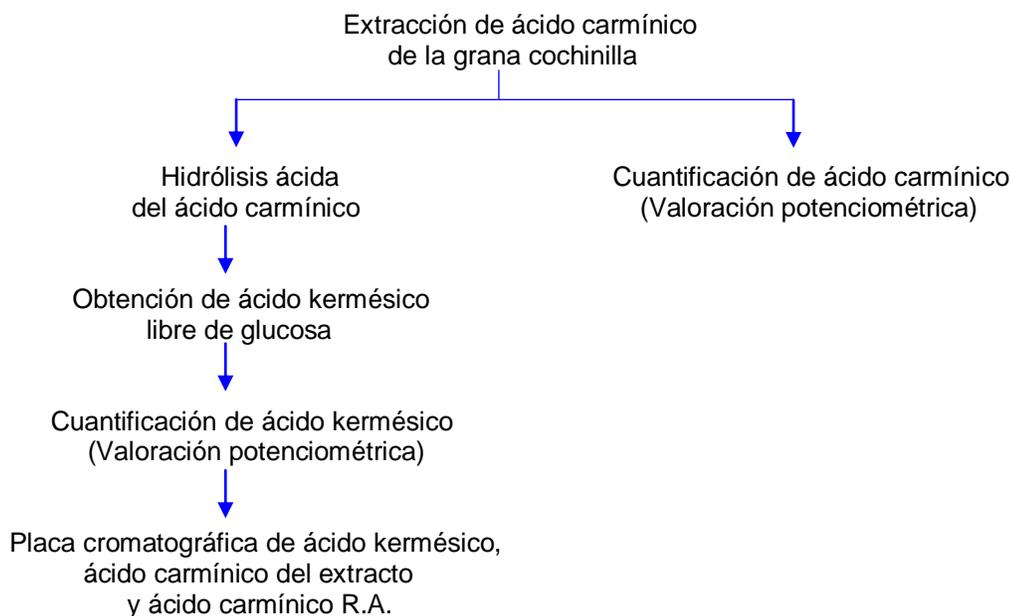
4.3.6. Cromatografía en capa fina del ácido kermésico libre de glucosa.

Por medio de cromatografía en capa fina (CCF) se determinó el R_f del ácido kermésico y se comparó contra el R_f del ácido carmínico del extracto y el ácido carmínico, Aldrich®.

Entre estos compuestos existe una diferencia de polaridad que permite la separación e identificación, al correr una placa cubierta con una matriz de silica gel como fase estacionaria y una mezcla de solventes orgánicos como fase móvil. Los eluyentes empleados fueron: agua, etanol, metanol, tetrahidrofurano y acetato de etilo.

Las placas de cromatografía en capa fina se prepararon en portaobjetos cubiertos de silica gel en acetato de etilo; se utilizó agua como disolvente y acetato de etilo-metanol 40:60 como eluyente; dado que los compuestos son coloridos no fue necesario el uso de un revelador.

Figura 6. Metodología de la obtención del ácido kermésico



4.4. ESTUDIO ELECTROQUÍMICO FUNDAMENTAL DE ÁCIDO KERMÉSICO

4.4.1. Análisis polarográfico del ácido kermésico

El estudio electroquímico del ácido kermésico, se realizó por el método de voltamperometría (también llamado polarografía cuando el electrodo de trabajo empleado es el de gota de mercurio) y se trazaron las curvas intensidad-potencial (polarogramas) por polarografía clásica (PC) y polarografía diferencial de impulsos (PDI) para la detección de las posibles señales del ácido kermésico.

Para las mediciones de los polarogramas, el equipo utilizado fue un polarógrafo Radiometer Analytical MDE 150, con un electrodo de trabajo de gota de mercurio (EGM), un electrodo de referencia de $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}_{\text{aq}}$ 3M tipo TR020 y un electrodo auxiliar de platino tipo TM020.

El análisis polarográfico se efectuó en dos medios usados como electrolitos soporte: nitrato de potasio 0.2 M y una disolución amortiguadora de boratos a pH 10 R.A. (Merck®). Para cada electrolito soporte se trazó la curva de intensidad de corriente residual y se determinó el dominio de electroactividad; se utilizaron dos disoluciones de ácido kermésico de concentraciones 2.6×10^{-2} M y 3.3×10^{-3} M respectivamente y se trazaron los polarogramas correspondientes en cada uno de los electrolitos soporte.

El procedimiento consistió en colocar 10.0 mL de nitrato de potasio 0.2 M en la celda electroquímica y se burbujó nitrógeno durante 10 minutos para eliminar el oxígeno disuelto, se mide la señal residual; después de cada adición se volvió a burbujear nitrógeno durante 3 minutos antes de trazar los polarogramas y evitar interferencias con las señales de interés. El nitrógeno se mantuvo durante todas las mediciones para evitar el retorno del oxígeno.

El dominio de electroactividad para la disolución de nitrato de potasio, se estableció a una velocidad de barrido de 5 mVs^{-1} ; la barrera de oxidación se ubicó en 260 mV/ $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}_{\text{aq}}$ y la barrera de reducción en -1695 mV/ $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}_{\text{aq}}$. En estas mismas condiciones se efectuaron adiciones sucesivas de 25 μL de ácido kermésico 2.6×10^{-2} M (6.5×10^{-5} M en celda) hasta llegar a 300 μL (7.6×10^{-4} M en celda).

Para la disolución amortiguadora de boratos a pH 10, se colocaron 8.0 mL en celda y se trazó la curva de intensidad de corriente residual previo burbujeo de nitrógeno durante 10 minutos y 3 minutos después de cada adición y antes de trazar los voltamperogramas. Se estableció el dominio de electroactividad de -1800 a 200 mV/ Ag/AgCl/KCl_{aq} con una velocidad de barrido de 5 mVs⁻¹.

4.4.2. Pruebas cualitativas de ácido kermésico con algunos cationes metálicos

Se realizaron pruebas a la gota en una placa de toque entre kermésico y las siguientes sales: CaCl₂, AlCl₃, SrCl₂, FeSO₄, MnCl₂, MgSO₄, ZnCl₂, SnCl₂, AgNO₃ y Cu(NO₃)₂ (a partir de Cu⁰ y 1 mL de HNO₃ 65%); las pruebas se realizaron en medio ácido y en medio alcalino para observar con cuáles había reacción** y pudiesen formarse complejos que fueran de interés en la industria alimentaria para realizar el estudio electroquímico.

4.4.3. Análisis polarográfico de ácido kermésico con calcio, aluminio y magnesio

Con base en los resultados de las pruebas a la gota entre el ácido kermésico y los diferentes cationes metálicos, se realizó el estudio electroquímico con calcio, aluminio y magnesio; los primeros dos cationes son de uso frecuente en los complejos formados con ácido carmínico y de importancia en la industria alimentaria, textil y cosmética.

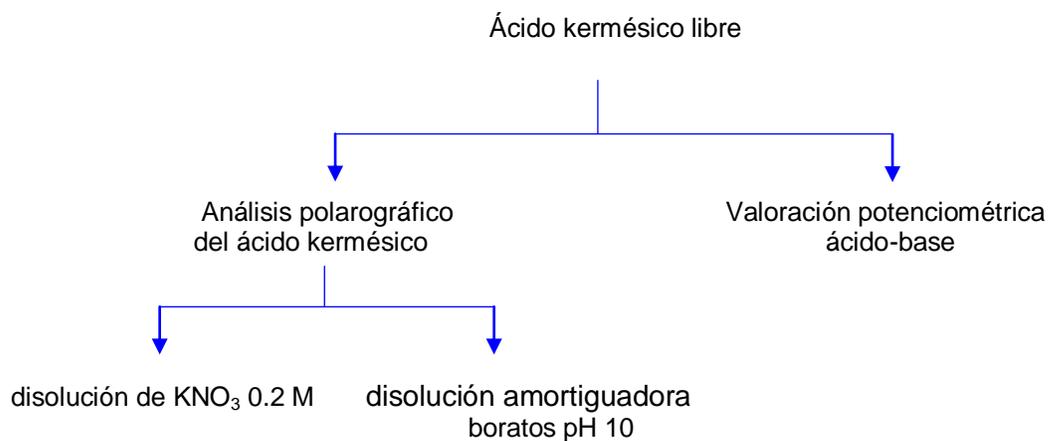
Se trabajó en el mismo polarógrafo (Radiometer Analytical MDE 150) y usando los mismos electrodos tanto de trabajo como de referencia que los usados en el análisis polarográfico del ácido kermésico (electrodo de trabajo de gota de mercurio, electrodo de referencia de Ag/AgCl/KCl_{aq} y electrodo auxiliar de platino), utilizando disolución amortiguadora de boratos a pH 10 como matriz, esto con el fin de tener al ácido kermésico desprotonado y favorecer la formación de los complejos con los cationes metálicos correspondientes (aluminio, calcio y magnesio).

El procedimiento consistió en colocar 8.0 mL de la disolución amortiguadora buffer de boratos en la celda y trazar las curvas residuales en un medio amortiguador de boratos a pH 10; se adicionaron 1000 µL de ácido kermésico 3.3 mM (6.6 x 10⁻⁴ M en celda) y se hicieron las

correspondientes valoraciones utilizando disolución de CaCl_2 0.02054 M, disolución de AlCl_3 0.02616 M y disolución de MgSO_4 0.02717 M haciendo adiciones sucesivas para trazar las curvas correspondientes (método de relaciones molares).

Las posibles estequiometrías para los complejos formados con ácido kermésico entre aluminio, calcio y magnesio se determinaron por medio del método de relaciones molares.

Figura 7. Metodología del estudio electroquímico fundamental del ácido kermésico



5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. OBTENCIÓN Y ESTUDIO DE ÁCIDO KERMÉSICO

5.1.1. Rendimiento de extracción de la grana cochinilla y cuantificación de ácido carmínico

En la obtención del ácido carmínico se utilizaron 100 g de grana cochinilla comercial marca “ALTECSA” y se hicieron cinco extracciones con 300.0 mL de agua cada una; se concentró en un rotavapor y se llevó a un aforo de 250.0 mL.

Mediante la valoración del ácido carmínico con hidróxido de sodio previamente valorada, se determinaron los posibles puntos de equivalencia y se cuantificó el rendimiento de extracción. El pH se midió de forma directa con un pHmetro calibrado para lo cual se emplearon, dos disoluciones amortiguadoras de pH de 4 y 7, con ajuste de la temperatura y conforme a las instrucciones del pHmetro.

La figura 8 muestra la curva de valoración potenciométrica típica de una disolución de ácido carmínico. En la gráfica se observan tres puntos de inflexión que se relacionan con la valoración de tres protones ácidos en la molécula del ácido carmínico, mismos que indican el comportamiento de un ácido poliprótico.

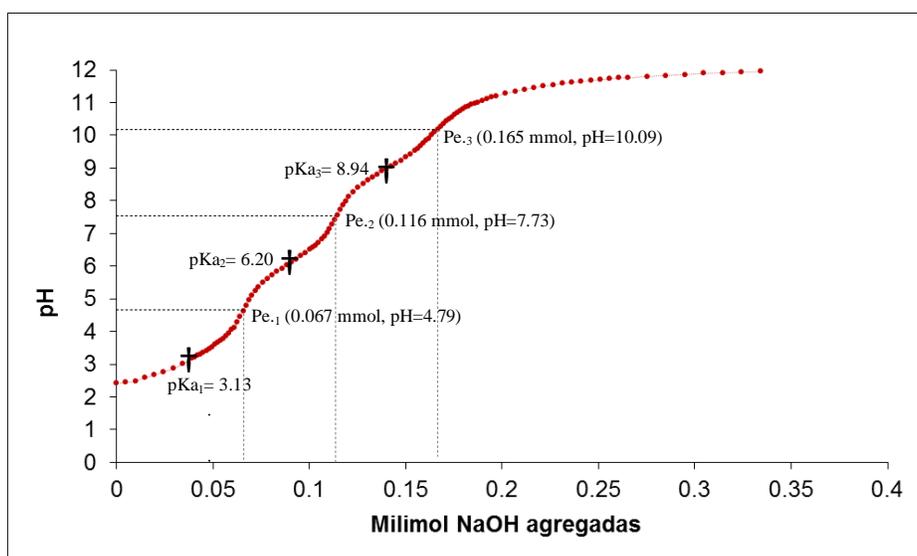


Figura 8. Curva de valoración potenciométrica típica de una disolución de ácido carmínico. Valoración de una alícuota de 2.0 mL de ácido carmínico 0.05 M con disolución NaOH 0.049 M en etanol al 50%.

Se identifican tres puntos de equivalencia asociados con el grupo carboxilo (-COOH) y los cuatro grupos (-OH) fenólicos de las posiciones C-3, C-5, C-6 y C-8 de la estructura antraquinónica de este ácido, que son susceptibles a la pérdida de protones y presentan características ácido-base que contribuyen a los cambios de color al variar el pH de las disoluciones de carmínico. Los valores de pKa asociados a los equilibrios de disociación son: $pK_{a1} = 3,13$; $pK_{a2} = 6,20$ y $pK_{a3} = 8,94$, respectivamente que comprende a la valoración del protón carboxílico y 2 de los fenólicos.⁽²⁵⁾

En la figura 9 se muestra la curva de valoración potenciométrica de una alícuota de 10.0 mL (100g cochinilla/250 mL) de extracto de cochinilla diluido 1:10 en etanol al 50%, valorada con disolución NaOH 0.0933 M. Con base en los valores de pKa reportados para el ácido carmínico ($pK_{a1} = 3,13$, $pK_{a2} = 6,20$ y $pK_{a3} = 8,94$) se estimaron los valores para los puntos de equivalencia en el extracto de cochinilla y las moles de NaOH gastadas para su cuantificación.

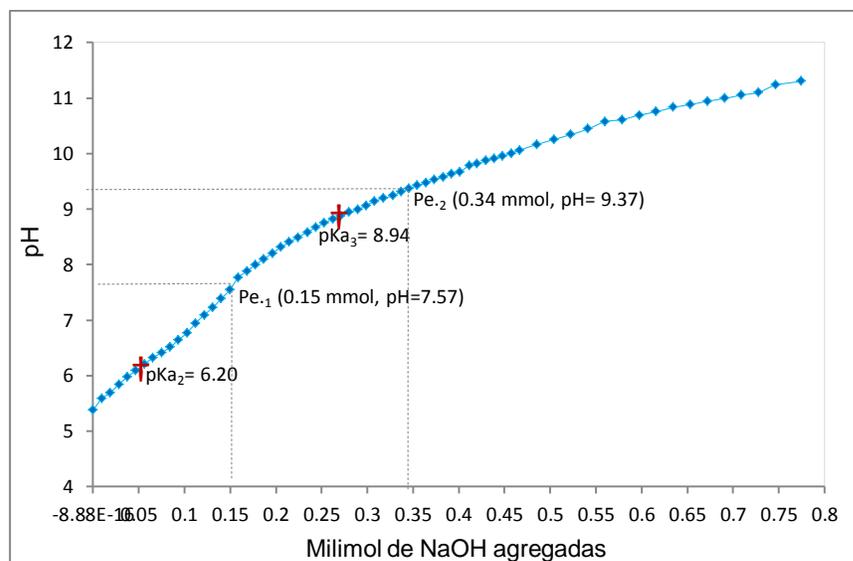


Figura 9. Valoración de ácido carmínico contenido en 10.0 mL de extracto de cochinilla (100g cochinilla/250 mL) diluido 1:10 (equivalente a 40g cochinilla/L) con disolución NaOH 0.0933 M en etanol al 50%.

El inicio de la valoración se encuentra a pH 5.38, a este pH no es posible conocer el primer punto de equivalencia, predomina el anfolito H_2A en un 90% y la especie HA en un 10%; si se tiene en cuenta que el pK_{a2} se encuentra a pH de 6,20 (0.056 mmoles de NaOH), se estima que a este pH se han valorado la mitad de moles para el segundo punto de equivalencia, es decir, a pH de 7.57 ($pK_{a3}+pK_{a2} / 2$) con 0.15 mmoles de NaOH, se encuentran las moles gastadas en el segundo punto de equivalencia ($0.15-0.056=0.094$), por lo que las mmoles de NaOH gastadas para este segundo punto son aproximadamente 0.188 ($0.094 \times 2=0.188$).

La valoración de cada protón se considera equivalente por lo que los moles gastados en la valoración del tercer punto de equivalencia serán semejantes. De este modo en el pK_3 a pH de 8.94 habrán la mitad de moles gastadas para el tercer punto de equivalencia ($0.15+0.19=0.34$ mmoles de NaOH). Es así como se consideran aproximadamente 0.19 mmol de NaOH gastadas en promedio por cada protón valorable del ácido carmínico.

Para la valoración del ácido carmínico en la alícuota de 10.0 mL se tiene una concentración 1.9×10^{-2} M, que al estar diluida 1:10, la concentración en el extracto original es 0.19 M. Al considerar que 100 g de cochinilla están en 250 mL, en 1000 mL habrán 400 g de grana cochinilla y al tomar en cuenta la masa molar del ácido carmínico ($492.39 \text{ g mol}^{-1}$) se tiene un rendimiento de extracción de 23.3% para este ácido en la grana cochinilla (anexo 8.1 para ver cálculos, pág. 80).

El primer punto de equivalencia se puede asociar con el grupo carboxilo que tiene un protón más ácido; el pH al inicio de la valoración se encuentra amortiguado y no es posible observar la valoración completa de este protón. Las otras dos inflexiones se asocian a la pérdida de protones de la posición meta del grupo fenólico hacia el grupo metilo y a la pérdida de otro grupo fenólico cerca, la acidez de este último protón es más baja respecto a los otros protones valorados y la inflexión en la curva es la más pequeña. Los restos de materia orgánica procedentes de la extracción de la grana cochinilla provocan, al parecer, una alteración en el aspecto general de la curva de valoración pero se pueden identificar las similitudes y reconocer los tres puntos de equivalencia.

5.1.2. Obtención de ácido kermésico libre de glucosa

Posterior a la extracción del ácido carmínico de la grana cochinilla, se sometió a una hidrólisis ácida (2 mL de H_2SO_4 concentrado agregados a 100.0 mL del extracto de cochinilla y puesto en ebullición durante 15 minutos) para obtener el ácido kermésico, objeto de este estudio. Posteriormente se filtró para eliminar la materia orgánica residual.

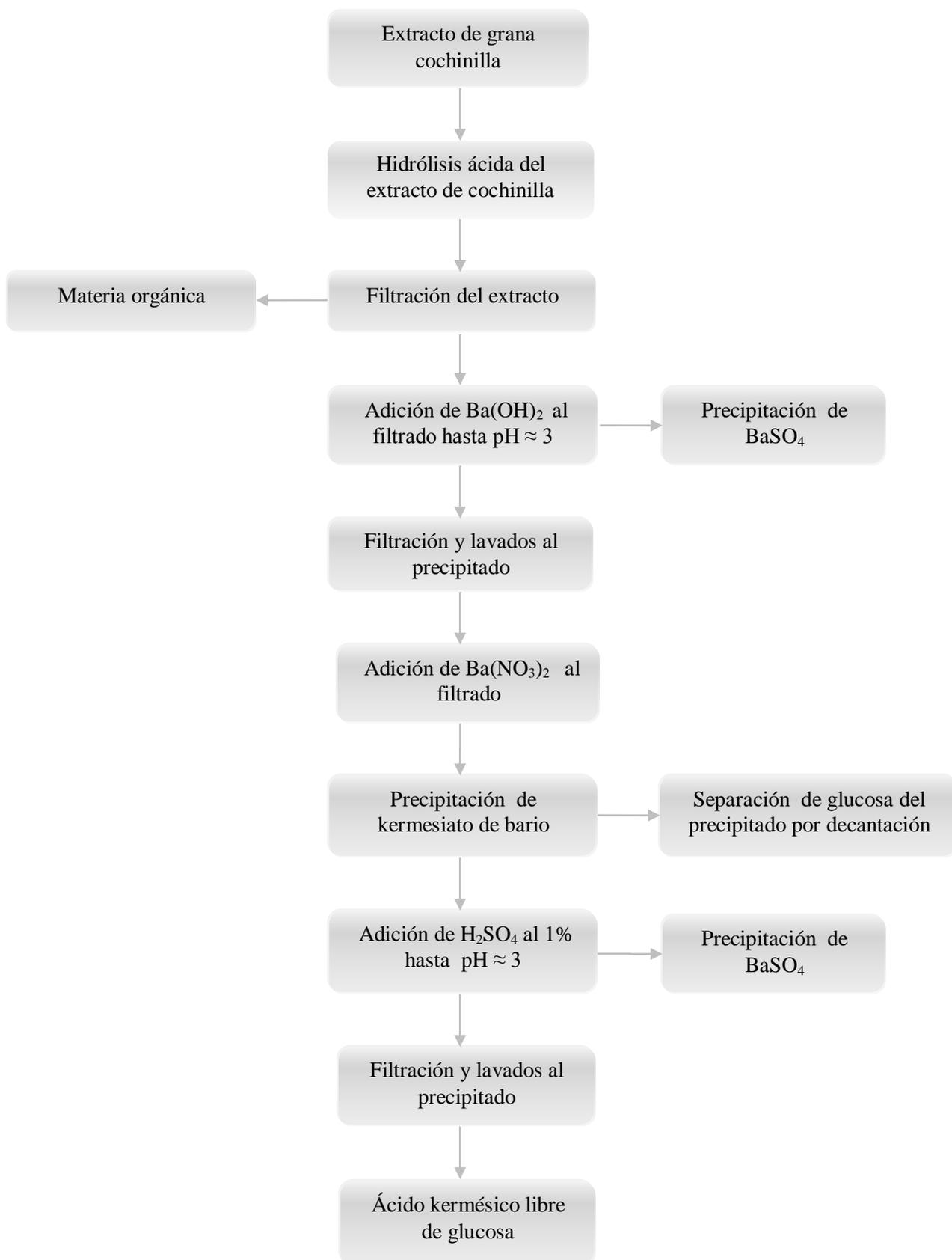
Después de la hidrólisis, el ácido kermésico tenía un exceso de acidez (pH de 0.5); para evitar que este exceso de protones afectará la valoración, se adicionó hidróxido de bario ($\text{Ba}(\text{OH})_2$) para elevar el pH a un valor alrededor de 3 con la subsecuente precipitación de sulfato de bario (BaSO_4). La cantidad de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ del cálculo estequiométrico para los 100 mL del hidrolizado (6.168g) no fue suficiente para aumentar el pH alrededor de 3 por lo que se agregó un ligero exceso (7.664g en total), se hicieron lavados al precipitado para recuperar más ácido kermésico y se llevó a un aforo de 100.0 mL.

Con el fin de tener libre al ácido kermésico se tomó una alícuota de 10.0 mL y se separó de la glucosa en la disolución añadiendo $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ para evitar elevar el pH y precipitar kermesiato de bario, facilitando su separación por decantación. La glucosa obtenida no pudo ser cuantificada por el método de Fehling, para cuantificar azúcares reductores, pues por el proceso de calentamiento, debió ser oxidada a hidroximetilfurfural (HMF) o incluso a ácido glucónico.

Estos compuestos se pueden valorar por potenciometría y/o técnicas electroquímicas. El HMF ha sido cuantificado por polarografía diferencial de impulsos (PDI) en miel, por el método de adiciones patrón, en disolución amortiguadora de boratos a pH de 10. La cuantificación de estos compuestos no se realizó en el presente estudio.⁽³²⁾

Para recuperar el ácido kermésico en disolución, al kermesiato de bario se añadió ácido sulfúrico diluido al 1% hasta alcanzar un valor de pH de 3, se filtró y se llevó a un aforo de 10.0 mL. En la figura 10 se muestra el esquema de la metodología antes descrita (ver anexo 8.2, pág.82 para cálculos).

Figura 10. Esquema de la obtención de ácido kermésico libre de glucosa.



5.1.3. Cuantificación de ácido kermésico

Para la cuantificación del ácido kermésico se realizó una valoración con disolución de hidróxido de sodio 0.0933 M; para ello se tomó una alícuota de 5.0 mL de una dilución 1:10 de la disolución de ácido kermésico en etanol al 50% y se hicieron medidas directas de pH después de cada adición de hidróxido de sodio, con el pHmetro previamente calibrado y se midió la conductancia en un conductímetro con un electrodo cuya constante de celda fue $K_c = 0.78 \text{ cm}^{-1}$.

La estructura molecular del ácido kermésico, es de una antraquinona polisustituida como la del ácido carmínico, pero sin la presencia del enlace glicosídico; por ello se espera una curva de valoración con tres puntos de inflexión atribuibles al grupo carboxilo y a los grupos hidroxilo fenólicos, que son susceptibles a desprotonarse y que contribuyen a los cambios de color que se producen al cambiar el pH de las disoluciones del ácido kermésico (similar al comportamiento ácido-base del carmínico).

En las figuras 11 y 12, se muestran las graficas de valoración del ácido kermésico y la primera derivada que se usó para ubicar los posibles puntos de equivalencia. Los milimoles gastados para valorar cada protón son alrededor de 0.013, por lo que en los 5.0 mL (C_1) y al tomar en cuenta la dilución 1:10 (C_2) se tiene una concentración $2.6 \times 10^{-2} \text{ M}$ en 100.0 mL; al considerar la masa molar del ácido kermésico (330.25 gmol^{-1}) y su concentración en la disolución, el rendimiento de obtención de este ácido en los 250.0 mL de extracto de cochinilla, es de un 36.8% (anexo 8.3 pág. 84 para ver cálculos).

Los posibles valores de pKa asociados a las constantes equilibrio para el ácido kermésico son pKa_1 3.01, pKa_2 6.42 y el pKa_3 9.41; son similares a los valores de pKa reportados para el ácido carmínico (pKa_1 3.13, pKa_2 , 6.20 y pKa_3 8.94), donde el pKa_3 del kermésico difiere del valor reportado para el carmínico. Esta diferencia puede deberse a que la ausencia del enlace O-glicosídico facilita la valoración de los grupos hidroxilo (OH^-) de las posiciones C6 y C8 los cuales son equivalentes.

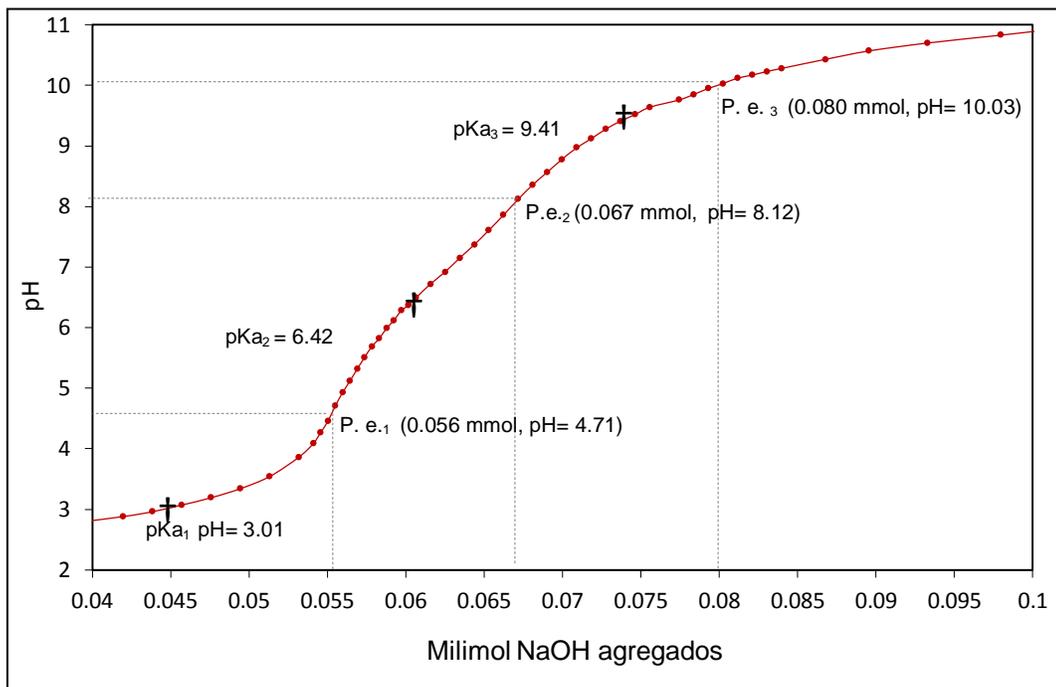


Figura 40. Valoración de 5.0 mL de ácido kermésico diluido 1:10 en etanol al 50% con disolución NaOH 0.0933 M
Figura 11. Valoración de 5.0 mL de ácido kermésico diluido 1:10 en ETOH al 50% con disolución NaOH 0.0933 M

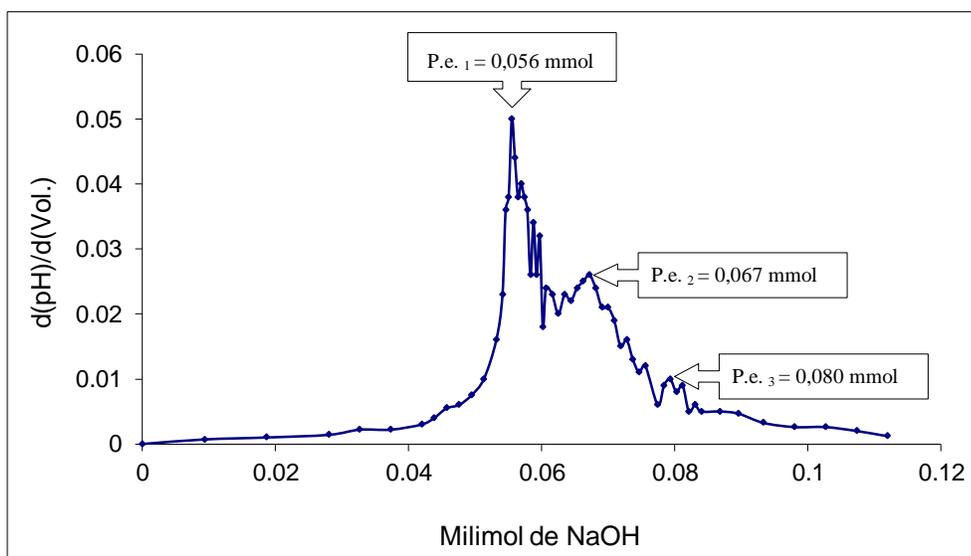


Figura 12. Primera derivada de la valoración 5.0 mL de ácido kermésico diluido 1:10 en etanol al 50% con disolución NaOH 0.0933 M

La figura 13 presenta la gráfica de la valoración conductimétrica de la alícuota de 5.0 mL de ácido kermésico diluido 1:10 en etanol al 50% usando una disolución de hidróxido de sodio 0.0933 M como valorante. Es posible observar tres cambios de pendiente, asociados a la valoración de los protones ácidos en el kermésico y la presencia de una impureza de carácter ácida, que interfiere en la valoración del primer punto de equivalencia, atribuible al proceso de hidrolisis. La conductancia disminuye debido a que la conductividad del protón H^+ libre es mucho mayor que la del Na^+ , de este modo los cambios de pendiente corresponden a los puntos de equivalencia alrededor de 0.056, 0.067 y 0.080 milimol de NaOH.

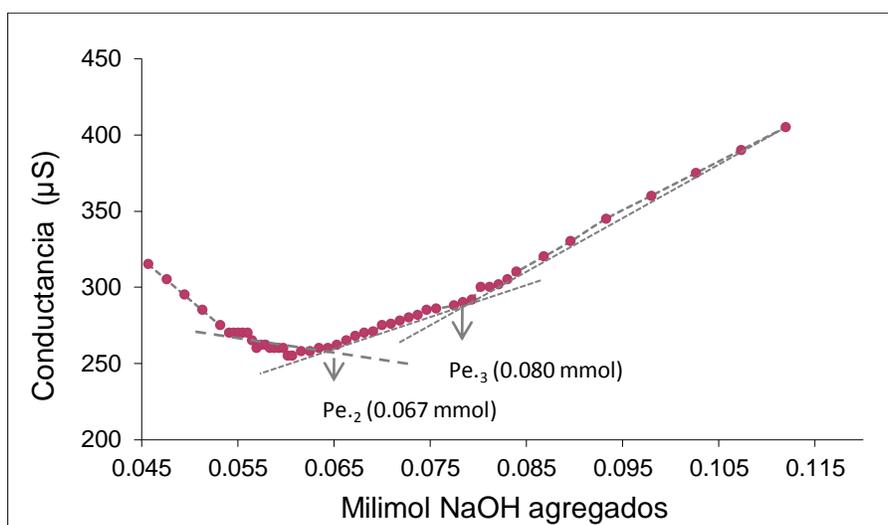


Figura 13. Valoración conductimétrica de 5.0 mL de ácido kermésico diluido 1:10 en etanol con disolución NaOH 0.0933 M.

5.1.4. Cromatografía en capa fina del ácido kermésico libre de glucosa.

La cromatografía en capa fina (CCF), es un método sensible y versátil para el análisis de colorantes hidroxiquinónicos caracterizados generalmente por su naturaleza quinónica. El R_f (factor rate) es un parámetro que caracteriza la migración de la sustancia de interés en la fase estacionaria y permite su identificación; se obtiene de la relación de la distancia recorrida por el soluto entre la distancia recorrida por el frente del disolvente.⁽³³⁾

Para el análisis por cromatografía en capa fina del ácido kermésico, se usaron mezclas de disolventes con diferente polaridad en proporciones variables, para obtener una fase móvil idónea en la caracterización cualitativa del kermésico. Entre los disolventes empleados se encuentran: agua, etanol, metanol, tetrahidrofurano y acetato de etilo. Estos disolventes han sido empleados como fase móvil para el análisis de colorantes quinónicos, como el ácido carmínico y kermésico, entre otros.⁽³⁴⁾

En la figura 14 se presenta una imagen de la placa de cromatografía en capa fina; el primer punto de aplicación corresponde al ácido carmínico R.A. (Aldrich®), el segundo punto es el ácido carmínico del extracto de la grana cochinilla y el tercer punto es el ácido kermésico libre de glucosa. La placa se preparó con sílica gel como fase estacionaria, el disolvente fue agua y el eluyente una mezcla 40:60 de acetato de etilo-metanol, con la que se logró una polaridad que permitió la separación y diferenciación de los tres compuestos.

El ácido carmínico Aldrich® y el ácido carmínico del extracto tuvieron un R_f similar (0.65), mientras que para el ácido kermésico se calculó un R_f de 0.77. En las placas se observa el halo característico de los ácidos carboxílicos, el ácido kermésico corre casi todo el frente de elución seguido por el ácido carmínico, es decir, el ácido kermésico migra con mayor facilidad debido a que es menos retenido por la fase estacionaria, es decir, es menos polar que el ácido carmínico. Esta diferencia de polaridades puede estar relacionada con la ausencia de glucosa en el ácido kermésico.

Masschelein-Kleiner⁽³⁴⁾ analizó diferentes colorantes quinónicos por CCF entre los cuales figuran el ácido kermésico y el ácido carmínico, entre otros colorantes quinónicos; para el carmínico informa un valor de R_f de 0.94 al utilizar como eluyente acetato de etilo-tetrahidrofurano-agua (6:35:47). Sin embargo, en este trabajo se obtuvieron resultados reproducibles y mejores con la mezcla de acetato de etilo-metanol.

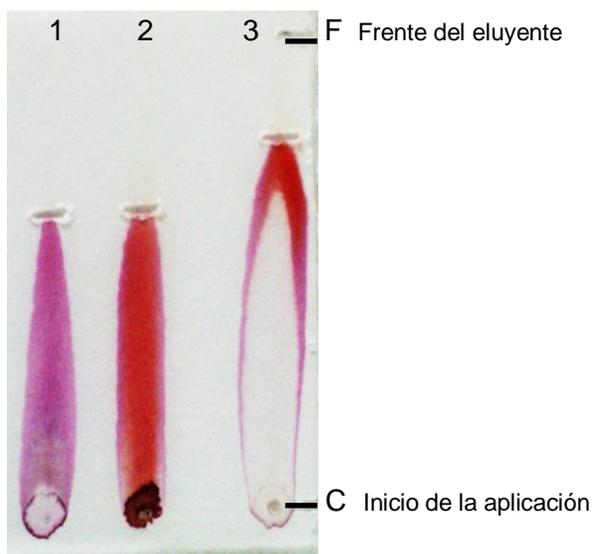


Figura 14. Cromatografía en capa fina del ácido kermésico y del ácido carmínico.

De izquierda a derecha: 1. ácido carmínico Aldrich®, 2. ácido carmínico del extracto de cochinilla 3. Ácido kermésico de la hidrólisis del ácido carmínico del extracto de cochinilla. C: comienzo. F: final.

Placa: sílica gel Merck®.

Eluyente: Acetato de etilo-metanol (40:60).

Disolvente: agua

5.2. ESTUDIO ELECTROQUÍMICO FUNDAMENTAL DE ACIDO KERMÉSICO

5.2.1. Análisis polarográfico del ácido kermésico

Las técnicas voltamperométricas empleadas en el análisis del ácido kermésico fueron la polarografía clásica (PC) y la polarografía diferencial de impulsos (PDI). La voltamperometría es un método de análisis instrumental que incluye un conjunto de técnicas electroanalíticas, en las que por medio de una microelectrólisis del analito, se obtienen medidas de la intensidad de corriente en función del potencial aplicado al electrodo de trabajo. Estas medidas brindan información sobre las propiedades redox de las sustancias electroactivas, la identificación en un medio específico y su posible cuantificación.

La polarografía clásica es una técnica voltamperométrica donde el electrodo de trabajo es el de gota de mercurio (EMG); proporciona información sobre el comportamiento redox de los sistemas y las condiciones de cinética electroquímica, es decir, si son reversibles o no, al presentar un comportamiento nernstiano (condiciones ideales) o no nernstiano; también es posible determinar el potencial de media onda ($E_{1/2}$) que está relacionado con el potencial normal (E^0) del par redox.

Al electrodo de gota de mercurio (EMG) la reducción del agua muestra un elevado sobrepotencial lo que permite contar con un intervalo de aproximadamente 2.0 V como dominio de electroactividad. Esta característica del electrodo favoreció el estudio del ácido kermésico al presentar un amplio intervalo de barrido de -1695 a 260 mV para la disolución de nitrato de potasio 0.2 M y de -1800 a 200 mV para la disolución amortiguadora de boratos a pH 10, ambos usados como electrolitos soporte (para eliminar las corrientes de migración y tener corrientes límite de difusión convectiva) en el análisis polarográfico.

5.2.2 Análisis polarográfico de ácido kermésico en disolución de nitrato de potasio 0.2 M

La figura 15 muestra el polarograma obtenido por polarografía clásica en 10.0 mL de disolución de nitrato de potasio 0.2 M, para el ácido kermésico. Se aprecian tres ondas de reducción, la primera onda es la más pequeña ($i_{d1} \approx 29$ nA), se ubica a un potencial de media onda $E_{1/2}^1 \approx -325$ mV; la segunda señal se ubica a un potencial de media onda $E_{1/2}^2 \approx -460$ mV con una intensidad de corriente límite $i_{d2} \approx 419$ nA; la tercera señal aparece a un potencial de media onda $E_{1/2}^3 \approx -952$ mV y presenta una intensidad de corriente límite $i_{d3} \approx 152$ nA.

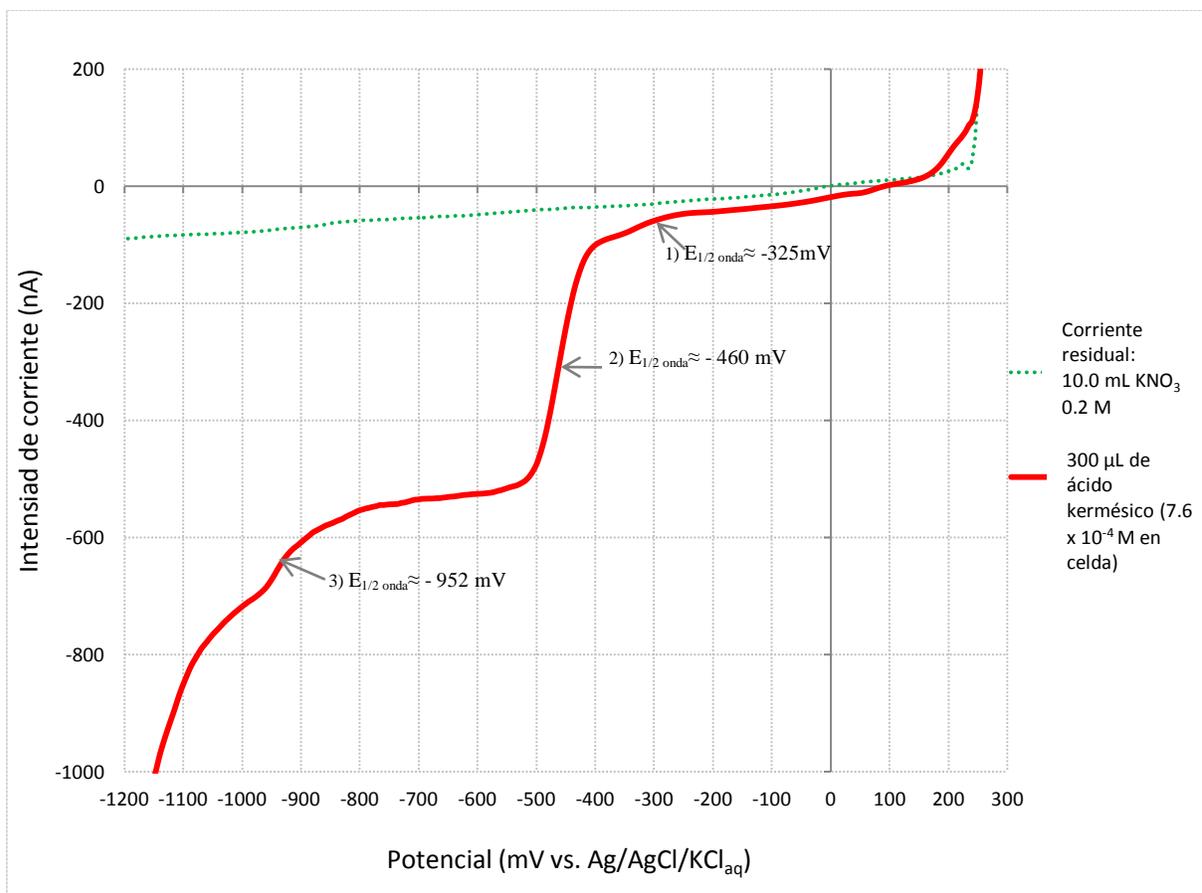


Figura 15. Polarograma por PC de ácido kermésico $2.6 \times 10^{-2} M$ en disolución KNO_3 0.2 M.

1), 2) y 3) indican las tres señales de reducción presentes en este medio para el kermésico con sus respectivos valores de potencial de media onda ($E_{1/2}$).
Ventana de potencial de -1695 mV a 260 mV, velocidad de barrido: $5mVs^{-1}$.

La intensidad de corriente límite de las tres ondas está directamente relacionada con la concentración, el número de electrones y la constante de difusión convectiva ($i_d = nk^D C$). Considerando que se trabaja en un régimen de difusión convectiva, se pueden comparar los valores obtenidos al dividir la intensidad de corriente límite de cada onda de reducción entre la concentración (i_d/C), para conocer el posible número de electrones involucrados en cada onda.

La tabla 2, muestra los valores de la relación entre la intensidad de corriente límite y la concentración, estos valores sugieren que la tercera señal ($E_{1/2}^3 \approx -952$ mV), intercambia al menos un electrón y que la segunda señal ($E_{1/2}^2 \approx -460$ mV) intercambia el doble que la tercera, mientras

que para la primera señal ($E_{1/2}^1 \approx -325$ mV) se infiere que posiblemente no hay control por difusión convectiva (posible adsorción).

Tabla 2. Relación entre la intensidad de corriente límite y la concentración de las señales de reducción observadas para el ácido kermésico por polarografía clásica

Señal de reducción	$E_{1/2}$	id	i/C^*
1º	-325 mV	29	0.4
2º	-460 mV	419	6
3º	-952 mV	152	2

La primera señal de reducción tiene una intensidad de corriente límite prácticamente 15 veces más pequeña que la segunda señal y 5 veces menor que la tercera; la tercera señal es sólo 3 veces menor respecto a la segunda señal. Por lo anterior, es posible asumir que la primera señal puede estar asociada a reacciones químicas no gobernadas por difusión convectiva en la superficie del electrodo o a una absorción, y que la segunda y tercera señales pueden ser atribuibles a la reducción del ácido kermésico.

En la figura 16 se muestra el polarograma trazado por la técnica de polarografía diferencial de impulsos (PDI); esta técnica presenta mayor sensibilidad de detección que la polarografía clásica (se pueden medir concentraciones hasta de 10^{-8} M en celda con PDI, mientras que con PC se detectan concentraciones en celda hasta 10^{-6} M).

Las señales identificadas por polarografía clásica, aparecen en PDI a potenciales de pico ligeramente desplazados respecto al potencial de media onda, alrededor de 25 mV para cada una de las señales de reducción observadas por polarografía clásica.

En la gráfica se observan las tres señales identificadas por polarografía clásica y aparece otra señal alrededor de -1115 mV, esta cuarta señal puede atribuirse a que la tercera señal identificada por polarografía clásica se desdoble en dos señales que, debido a la sensibilidad de la polarografía diferencial de impulsos, es posible diferenciar.

La primera onda presenta el potencial de pico más bajo respecto a la segunda onda, lo que sugiere que en efecto, se trate de una adsorción originada por un incremento en el transporte del ácido kermésico hacia el electrodo, llegando mayor cantidad de moléculas que si sólo hubiese difusión convectiva.

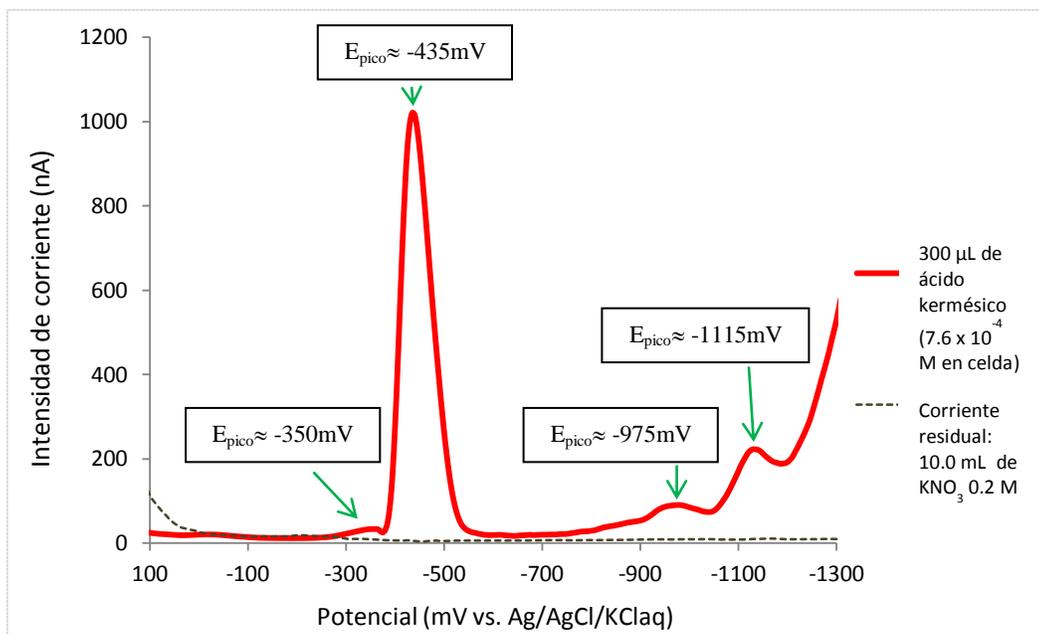


Figura 16. Polarograma diferencial de impulsos de ácido kermésico $2.6 \times 10^{-2} M$ en disolución de $KNO_3 0.2 M$.

Dominio de electroactividad: -1600 a 300 mV.

Velocidad de barrido $5 mVs^{-1}$. Amplitud de pulso 25 mV.

Con un estudio matemático de las ondas observadas, se determinó el potencial de media onda ($E_{1/2}$) para cada una de las señales de reducción, mediante un análisis logarítmico; para sistemas sencillos las ondas polarográficas tienen un comportamiento expresado por la siguiente ecuación (a 25 °C):

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

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

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

Una gráfica de potencial contra $\log(i-i_{ox}/-i)$ es una línea recta cuya ordenada al 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 del ácido kermésico y muestra si el proceso cumple con la ecuación de Nernst de manera ideal o no.

El potencial de media onda es característico de cada sistema oxido-reductor en un determinado medio y en general es independiente de la concentración de la especie electroactiva; es el potencial en el que la corriente es la mitad de la corriente límite ($i = i_d/2$) y se reduce la mitad de los iones de la especie. Proporciona información sobre la velocidad con la que se alcanza el equilibrio de reacción en la superficie del electrodo.⁽³⁵⁾

Para sistemas que se alejan del comportamiento nernstiano o ideal, $E_{1/2}$ representa el valor del potencial normal condicional (E^0) afectado por la sobretensión y el valor de la pendiente es $m=0.059/\alpha n$ donde α es un parámetro cinético que varía entre 0 y 1.

En la figura 17 se encuentra la gráfica del estudio logarítmico de la cinética electroquímica del ácido kermésico para la segunda señal de reducción. La recta obtenida tiene una ordenada al origen $E_{1/2} \approx -460$ mV y una pendiente de 40 mV asociado a un comportamiento de sistema cuasinernstiano o no nernstiano, con un intercambio de al menos dos electrones (pendiente menor a 59 mV pero mayor a 30). Si se considera que $n=2$, a partir del valor de m se tiene que $\alpha n=1.4$ y por lo tanto $\alpha=0.72$ que es un valor cercano al valor medio de 0.5 para sistemas que tienden al comportamiento ideal.

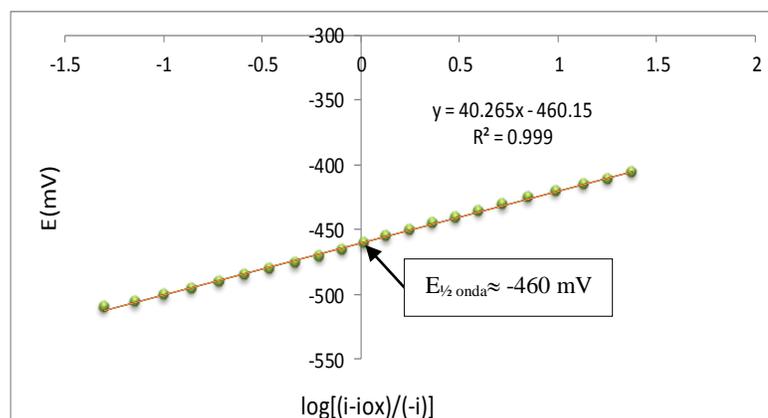


Figura 17. Estudio logarítmico de la segunda onda de reducción del ácido kermésico. Determinación del potencial de media onda.

Para la tercera señal de reducción (figura 18), la recta obtenida tiene una ordenada al origen $E^{3/2} = -952$ mV y una pendiente de 59 mV atribuible al comportamiento de un sistema nernstiano con el posible intercambio de un electrón.

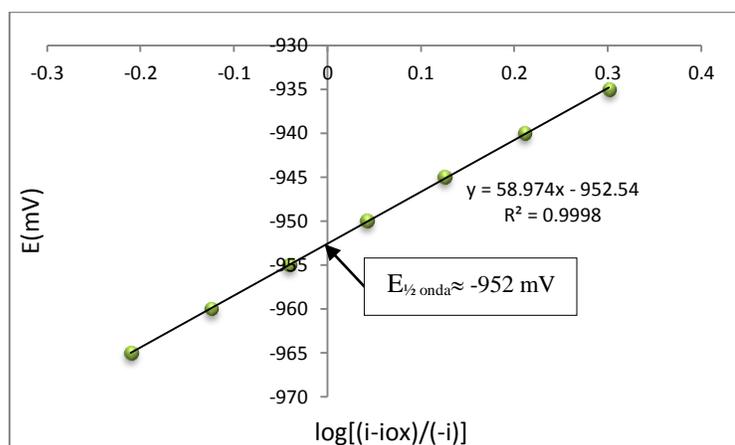


Figura 18. Estudio logarítmico de la tercera onda de reducción del ácido kermésico. Determinación del potencial de media onda.

Del estudio matemático efectuado para cada una de las señales de reducción, se encontró que la segunda señal con una $id_2 \approx 419$ nA, posiblemente intercambia el triple de electrones que la tercera señal $id_3 \approx 152$ nA, mientras que la primera señal de $id_1 \approx 29$ nA posiblemente se debe a una adsorción en la superficie del electrodo o a otros equilibrios químicos involucrados.

5.2.3. Gráficas de calibración y límite de detección para las señales de reducción del ácido kermésico en disolución de nitrato de potasio (KNO_3) 0.2 M

La relación entre la intensidad de corriente y la concentración del ácido kermésico es lineal si las características del electrodo se mantienen invariables así como la naturaleza de la disolución; estas gráficas de calibración se obtienen al graficar la concentración contra el incremento en la intensidad de corriente límite al hacer adiciones de kermésico, lo que permite su aplicación a la cuantificación.

En la figura 19 se muestran las curvas obtenidas, por polarografía clásica, de las adiciones comprendidas entre 6.5×10^{-5} M a 7.6×10^{-4} M de ácido kermésico en medio de nitrato de potasio 0.2 M. Estas curvas muestran un incremento en la intensidad de corriente límite de las señales de reducción a medida que aumenta la concentración; se tiene una mayor definición de las tres señales en la curva 8 que contiene la mayor concentración.

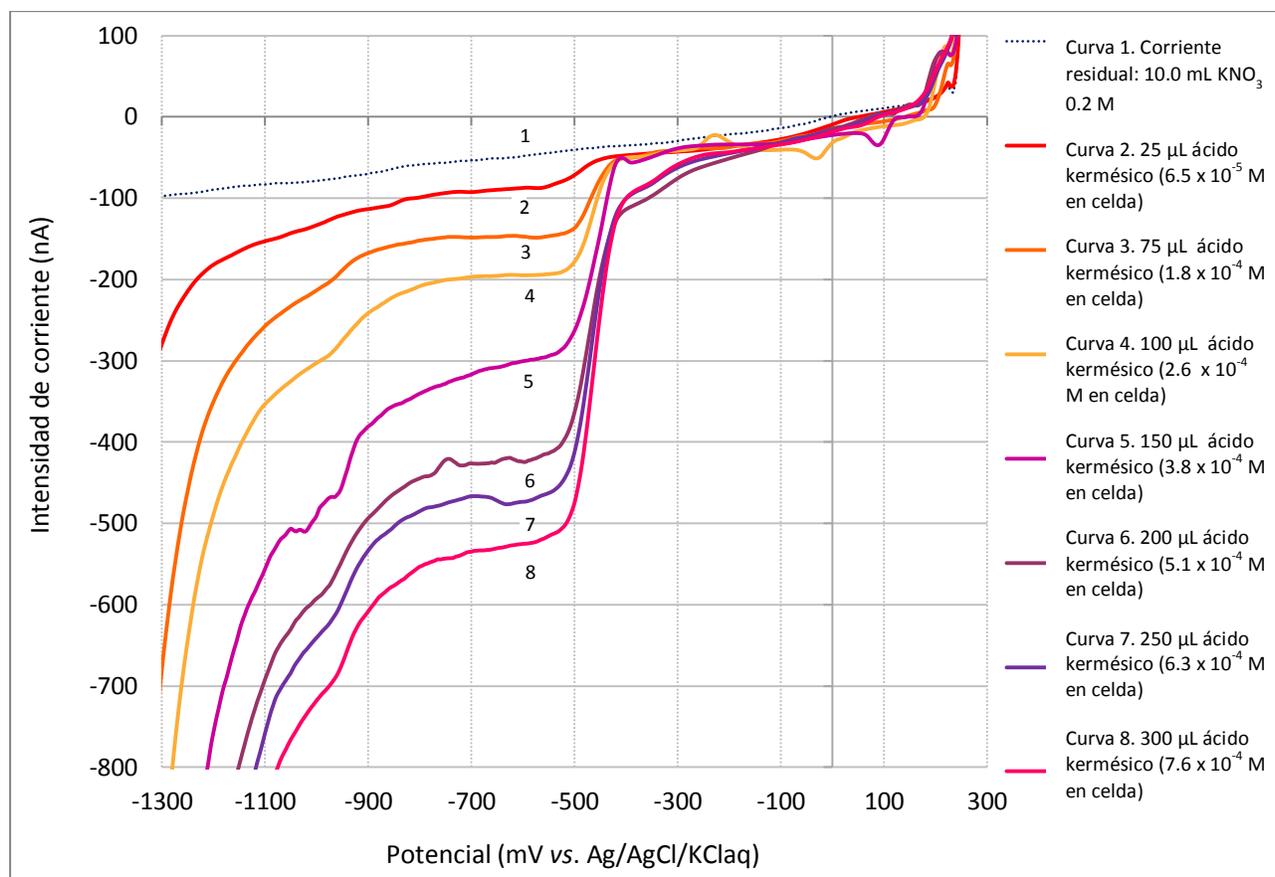


Figura 19. Polarograma clásico de las adiciones de ácido kermésico.
Ventana de potencial de -1695 mV a 260 mV, velocidad de barrido: 5 mVs^{-1} .

La gráfica de calibración para la segunda señal de reducción ($E_{\frac{1}{2} \text{ onda}}^2 \approx -460$ mV) se presenta en la figura 20. Se graficó midiendo la corriente límite de convección en función de la concentración, a potenciales medidos alrededor de -585 mV, sobre la recta de la corriente límite de difusión convectiva. En esta señal la intensidad de corriente aumenta de manera lineal respecto a la concentración del ácido kermésico ($r^2 = 0.994$) para las concentraciones comprendidas en todo el intervalo estudiado (entre 6.5×10^{-5} M y 7.6×10^{-4} M).

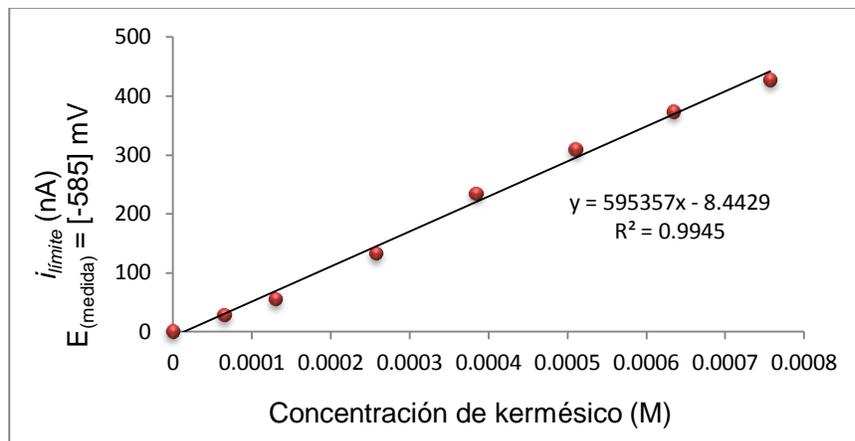


Figura 20. Gráfica de calibración del ácido kermésico en disolución KNO_3 0.2 M, para la segunda onda de reducción ($E^2_{1/2} \approx -460 \text{ mV}$).

Para la tercera señal de reducción (figura 21) las medidas de intensidad de corriente límite se hicieron a potenciales alrededor de -995 mV ; en esta señal el incremento de la intensidad de corriente no es proporcional al incremento de la concentración del ácido kermésico al no mostrar una relación lineal ($r^2 = 0.9242$) sino una tendencia polinomial ($r^2 = 0.9901$ para un polinomio de grado 3), esto significa que la corriente es lineal en función de otros parámetros diferentes a la concentración, posiblemente causados por fenómenos de transporte no controlados únicamente por difusión, que originan un flujo irregular de la corriente, tales como adsorciones o procesos cinéticos que involucren un equilibrio químico.

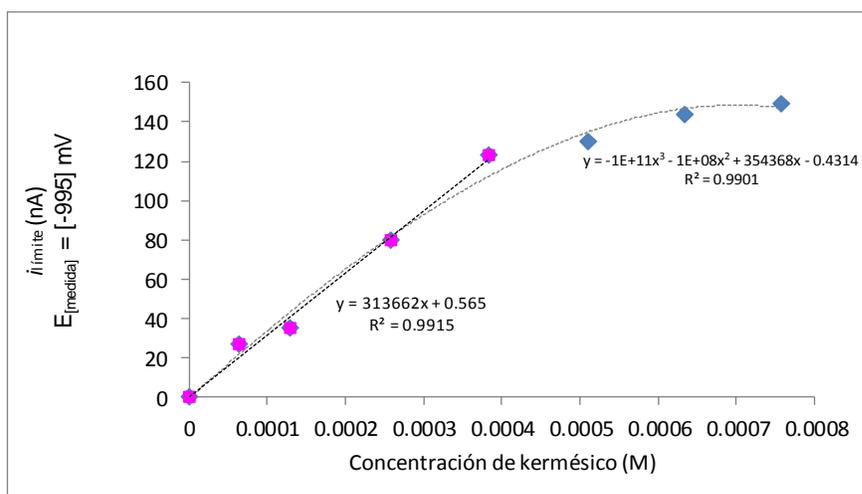


Figura 21. Curva de calibración del ácido kermésico en disolución KNO_3 0.2 M para la tercera onda de reducción ($E^3_{1/2} \approx -952 \text{ mV}$).

En la figura 22 se muestran las rectas de linealidad para la segunda y tercera señal de reducción en medio de nitrato de potasio 0.2 M. La linealidad se conserva a bajas concentraciones; a partir de la concentración 3.8×10^{-4} M del ácido kermésico, la intensidad de corriente de la tercera señal ya no es proporcional a la concentración, no es un proceso de difusión convectiva.

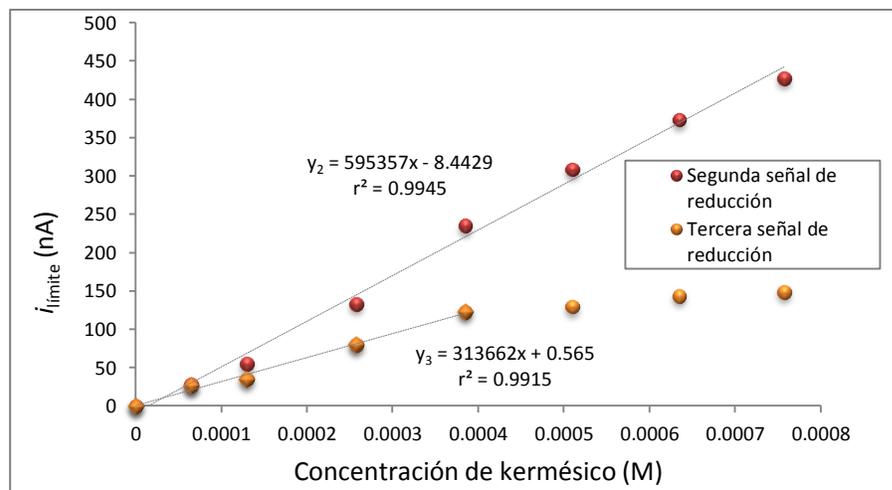


Figura 22. Curvas de calibración del ácido kermésico en disolución KNO_3 0.2 M correspondientes a las señales de reducción detectadas por polarografía clásica.

El límite de detección (LDD) permite conocer la sensibilidad de la técnica empleada para el estudio del ácido kermésico así como para su cuantificación, representando la menor cantidad de sustancia detectada. En la tabla 3 se muestra la ecuación de la recta, así como el coeficiente de correlación lineal (r^2) y el límite de detección obtenido al realizar el tratamiento matemático de los datos del análisis del ácido kermésico por polarografía clásica para la segunda señal.

No se calculó el límite de detección para la tercera señal debido a que no se mantiene una proporción lineal de la intensidad de corriente límite de difusión respecto a la concentración. El límite de detección del método se calculó como el triple de la desviación estándar ($LDD = 3\sigma$).

Tabla 3. Límites de detección obtenidos con polarografía clásica para el ácido kermésico en disolución KNO₃ 0.2 M.

Señal de reducción	$E_{1/2}$	$i = f(C^*)$	r^2	LDD
2º	-460 mV	$i_{d2} = 595357C^* - 8.4429$	0.9945	$8.2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (27.2 $\mu\text{g mL}^{-1}$)

La segunda señal presentó una linealidad adecuada para realizar cuantificaciones ($r^2=0.9945$) al encontrarse una relación lineal entre la intensidad de corriente y la concentración de ácido kermésico, además de presentar la mejor definición en la señal, la mayor intensidad de corriente en este medio ($i_{d2}=419 \text{ nA}$) y el límite de detección más bajo (27.2 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

5.2.4. Análisis polarográfico del ácido kermésico en disolución amortiguadora de boratos pH 10

El análisis del ácido kermésico en disolución amortiguadora de boratos a pH de 10 R.A. Merck®, se efectuó con 8.0 mL de disolución amortiguadora en celda y 2.0 mL de ácido kermésico $3.3 \times 10^{-3} \text{ M}$ ($6.6 \times 10^{-4} \text{ M}$ en celda). En este medio el kermésico presentó cuatro señales de reducción (figura 23) con valores de intensidad de corriente límite $id_1 \approx 228 \text{ nA}$, $id_2 \approx 1521 \text{ nA}$, $id_3 \approx 1188 \text{ nA}$, y $id_4 \approx 464 \text{ nA}$ a potenciales de media onda $E^{1/2} \approx -642 \text{ mV}$, $E^{2/2} \approx -748 \text{ mV}$, $E^{3/2} \approx -910 \text{ mV}$ y $E^{4/2} \approx -1368 \text{ mV}$, respectivamente.

El desplazamiento de las señales comparadas con las detectadas en medio de nitrato de potasio, puede atribuirse a que al pH 10 de la disolución amortiguadora de boratos el ácido kermésico se encuentra desprotonado (pH mayor al valor de pK_{a3} 9.41) y por lo tanto hay deficiencia de protones que puedan reducirlo. Se observa que la primera señal, puede atribuirse a una adsorción, mientras que la cuarta señal puede deberse al desdoblamiento de la tercera, comportamiento similar al observado en medio de KNO₃.

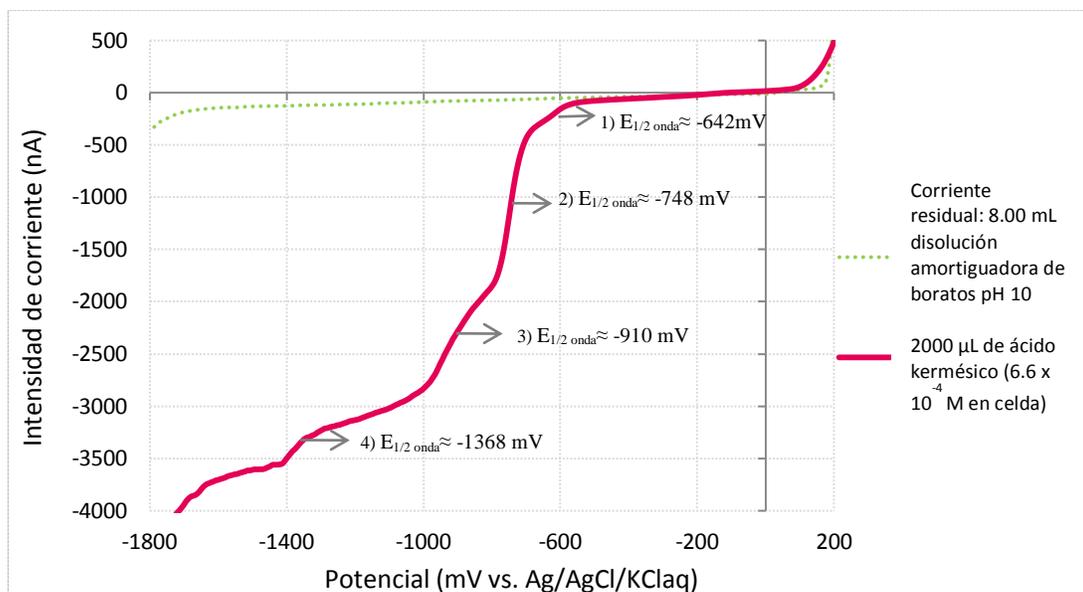


Figura 23. Polarograma por PC de ácido kermésico 3.3×10^{-3} M en medio amortiguador de boratos pH 10.

1), 2), 3) y 4) indican las cuatro señales de reducción presentes en este medio para el ácido kermésico con sus respectivos valores de potencial de media onda ($E_{1/2}$).

Ventana de potencial de -1800 mV a 200 mV, velocidad de barrido: 5mVs^{-1} .

En la figura 24 se presenta el polarograma trazado por polarografía diferencial de impulsos del ácido kermésico en el medio de boratos, se observan los picos correspondientes a las cuatro señales de reducción detectadas en el polarograma en potenciales de -610, -755, -940 y -1400 mV respectivamente.

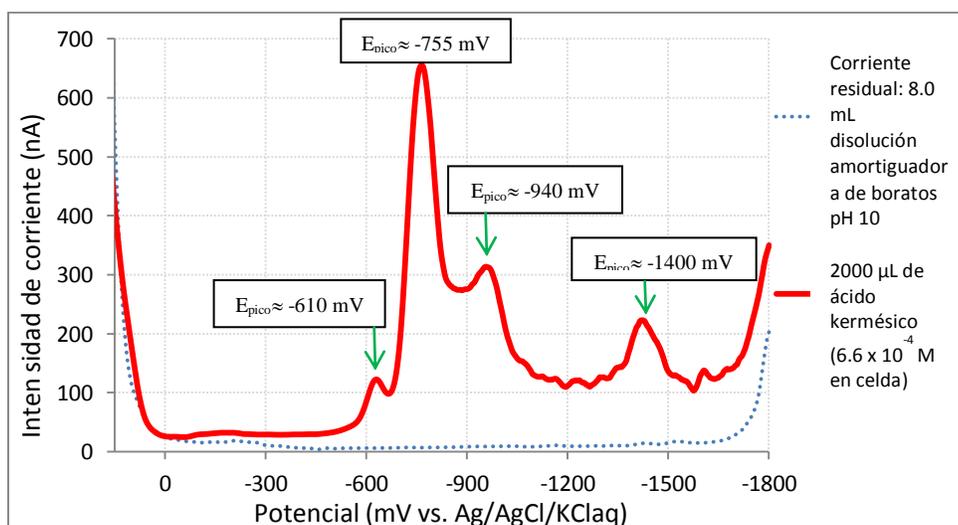


Figura 24. Polarograma por PDI del ácido kermésico en medio amortiguador de boratos a pH 10.

Ventana de barrido: -1800 a 200 mV.

Velocidad de barrido: 5mVs^{-1} . Amplitud de pulso: 25mV.

Los potenciales de media onda se determinaron mediante el mismo tratamiento matemático realizado para el ácido kermésico en medio de nitrato de potasio. La figura 25 muestra la gráfica obtenida del estudio logarítmico que presenta la segunda señal en medio de boratos a pH 10; la pendiente es de 35 mV correspondiente a un sistema cuasinerstiano con al menos dos electrones intercambiados.

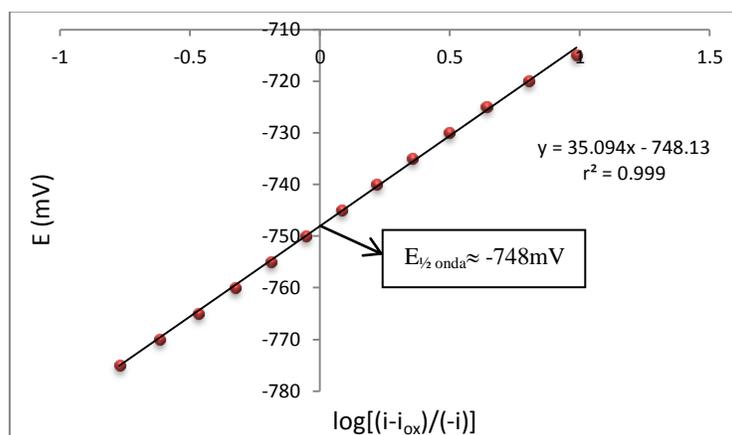


Figura 25. Estudio logarítmico de la segunda onda de reducción del ácido kermésico en medio de boratos. Determinación del potencial de media onda.

La tercera señal de reducción presentó un potencial de media onda, $E_{1/2}$, alrededor de -910 mV y una pendiente de 97 mV correspondiente a un sistema no nerstiano con al menos un electrón intercambiado (figura 26).

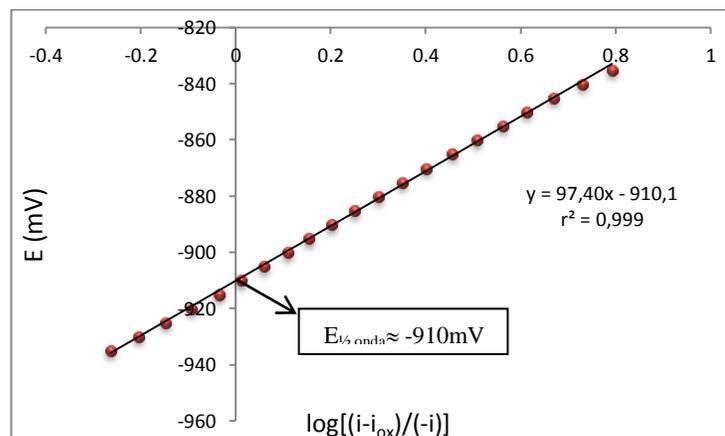


Figura 26. Estudio logarítmico de la tercera onda de reducción del ácido kermésico en medio de boratos. Determinación del potencial de media onda.

La última señal (figura 27) presentó un potencial de media onda de -1368 mV con el intercambio de al menos un electrón (pendiente de 56 mV).

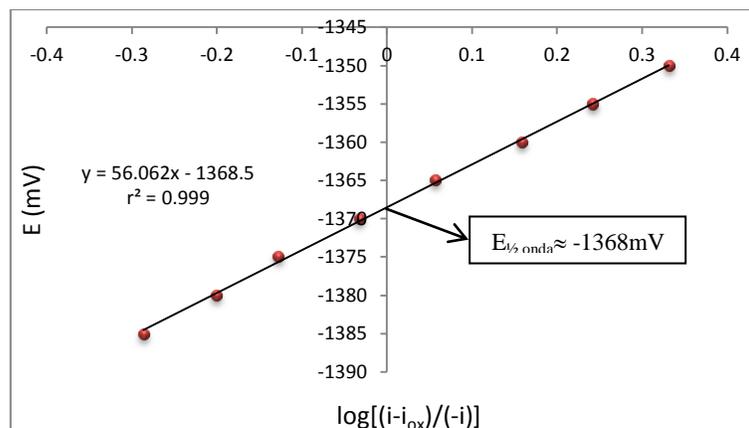


Figura 27. Estudio logarítmico de la cuarta onda de reducción del ácido kermésico en medio de boratos. Determinación del potencial de media onda

En el estudio electroquímico del ácido kermésico se ha tenido que acudir a sistemas análogos y a modelos quinónicos de carácter general a falta de información referente a sus propiedades oxidantes o reductoras. En la reducción de antraquinonas debe tenerse en consideración la tendencia de los productos de reacción a formar los tautómeros cetoenólicos; la antrahidroquinona en disolución se encuentra en equilibrio con la forma cetónica.

El ácido kermésico tiene estructura de una antraquinona polisustituida que es fácilmente reducido a antrahidroquinona y la forma cetónica oxantrona, según las condiciones en las que se lleve a cabo la reacción incluso hay formación de dímeros y tiene gran influencia sobre la estabilidad de los grupos unidos al anillo.⁽¹³⁾

5.2.5. Pruebas cualitativas de ácido kermésico con algunos cationes metálicos

Las pruebas cualitativas permiten conocer si se efectúa una reacción entre los compuestos en estudio utilizando pequeñas cantidades de los mismos; para conocer el comportamiento del ácido kermésico ante las siguientes sales: cloruro de calcio (CaCl_2), sulfato ferroso (FeSO_4), cloruro de aluminio (AlCl_3), cloruro de estroncio (SrCl_2), cloruro estanoso (SnCl_2), cloruro de zinc

($ZnCl_2$), nitrato de plata ($AgNO_3$), cloruro de manganeso ($MnCl_2$), sulfato de magnesio ($MgSO_4$) y $Cu(NO_3)_2$ con el fin de conocer con cuáles se producía alguna reacción de formación de complejos y qué comportamiento presentaban en medio ácido y básico.

En la tabla 4 se muestran los resultados de las pruebas cualitativas efectuadas entre el ácido kermésico y las sales para las pruebas cualitativas. Se realizó un estudio polarográfico con aluminio, calcio y magnesio por presentar estos reacción con el kermésico y ser de interés en la industria de alimentos, farmacéutica y textil.

Tabla 4. Resultados obtenidos de las pruebas cualitativas de la formación de complejos de algunos cationes metálicos con kermésico

		Ácido kermésico medio ácido	Ácido kermésico medio básico
Color		Rojo	Morado
No.	Cación metálico	Color	
		Ácido kermésico + catión medio ácido	Ácido kermésico + catión medio básico
1	Ca^{2+}	Rojo *	Púrpura
2	Al^{3+}	Rojo cereza	Magenta
3	Sr^{2+}	Naranja	Púrpura
4	Fe^{2+}	Café rojizo	Gris metálico
5	Mn^{2+}	Naranja	Morado *
6	Mg^{2+}	Naranja	Magenta
7	Zn^{2+}	Naranja	Púrpura
8	Sn^{2+}	Rojo vino	Violeta
9	Cu^{2+}	Rojo *	Café rojizo
10	Ag^{3+}	Salmón	Café claro

* No ocurre reacción: no hay cambio apreciable en el color.

En las figuras 28 y 29, se muestran los colores obtenidos de las pruebas cualitativas entre los cationes y el ácido kermésico en medio ácido y básico. En medio ácido se observa una gama de anaranjados con excepción del aluminio, hierro, estaño y plata, mientras que en medio básico predomina la gama de morados, salvo con hierro, cobre y plata. Con algunos cationes también se observa precipitación, sobre todo en medio básico (estaño, hierro, calcio, estroncio, magnesio, zinc y plata). Los cambios más evidentes de color ocurren con hierro, cobre, aluminio y estaño.

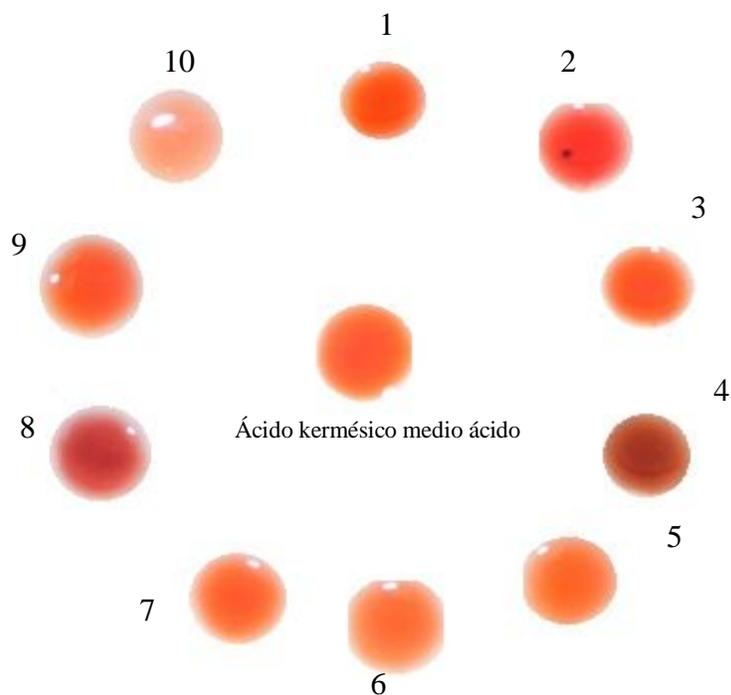


Figura 28. Pruebas cualitativas en medio ácido.
 1. CaCl_2 , 2. AlCl_3 , 3. SrCl_2 , 4. FeSO_4 , 5. MnCl_2 , 6. MgSO_4 , 7. ZnCl_2 , 8. SnCl_2 ,
 9. $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, 10. AgNO_3 y ácido kermésico en medio ácido.

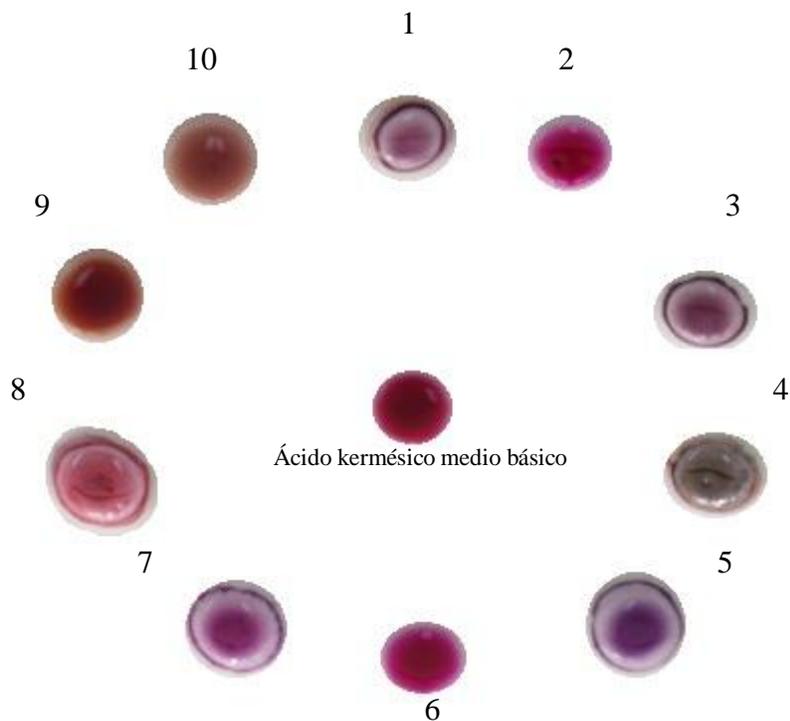


Figura 29. Pruebas cualitativas en medio básico.
 1. CaCl_2 , 2. AlCl_3 , 3. SrCl_2 , 4. FeSO_4 , 5. MnCl_2 , 6. MgSO_4 , 7. ZnCl_2 , 8. SnCl_2 ,
 9. $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, 10. AgNO_3 y ácido kermésico en medio básico.

5.2.6. Análisis polarográfico de ácido kermésico con aluminio.

En este análisis se efectuó una valoración con concentraciones conocidas de ácido kermésico y cloruro de aluminio, se trazaron curvas por polarografía clásica (PC) y polarografía diferencial de impulsos (PDI) y se determinó la relación estequiométrica de los complejos mediante el método de relaciones molares.

El ácido kermésico se encuentra desprotonado alrededor de pH 9.4 (valor de pK_{a3} estimado en la valoración), esto favorece la formación de complejos entre los cationes analizados (aluminio, calcio y magnesio) por esta razón se eligió trabajar en medio de boratos a pH 10.

Para la valoración se colocaron en celda 8.0 mL de disolución amortiguadora de boratos pH 10, 2000 μL de ácido kermésico ($6.6 \times 10^{-4} \text{ M}$ en celda) y se hicieron adiciones de una disolución de AlCl_3 0.02612 M, previamente valorada; en la tabla 5 se encuentra un ejemplo de las adiciones hechas para trazar cada polarograma.

Tabla 5. Adiciones de cloruro de aluminio 0.02616 M

[ácido kermésico] _{celda} = 6.6 μMol				
Vol. AlCl_3 0.02612M (μL)	μMol de AlCl_3	$[\text{Al}^{3+}]_{\text{celda}}$ (μMol)	mol $\text{Al}^{3+}/$ mol Ac. kermésico	E ~ -875mV i de pico (nA)
0	0	0	0	298
50	1.31	13.06	0.1978	151
75	1.96	19.59	0.2968	84
125	3.27	32.65	0.4947	55
150	3.92	39.18	0.5936	64
200	5.22	52.24	0.7915	78
250	6.53	65.30	0.9893	95
275	7.18	71.83	1.0883	100
325	8.48	84.89	1.2862	116
375	9.79	97.95	1.4840	117
425	0.11	111.01	1.6819	118
475	0.12	124.07	1.8798	112
525	0.14	137.13	2.0777	116
575	0.15	150.19	2.2756	117
625	0.16	163.25	2.4734	112
675	0.17	176.31	2.6713	108
725	0.19	189.37	2.8692	110
775	0.20	202.43	3.0671	102

Las curvas obtenidas por polarografía clásica se muestran en la figura 30. Se aprecia que la primera señal ($E^{1/2} \approx -642$ mV) y la cuarta señal ($E^{4/2} \approx -1368$ mV) de reducción observadas para el ácido kermésico en medio de boratos a pH 10, son atribuibles a posibles adsorciones ya que ambas señales prácticamente desaparecen al incrementar la concentración. La segunda señal ($E^{2/2} \approx -748$ mV) y la tercera señal ($E^{3/2} \approx -910$ mV), se desplazan a valores de potencial $E_{1/2} \approx -940$ mV y $E_{1/2} \approx -1370$ mV respectivamente; es posible que se trate de una misma señal que se desdobra y que con la formación de los complejos entre ácido kermésico y aluminio se unan.

No se aprecia una señal que aparezca asociada a la formación de los complejos, no obstante, la segunda señal puede estar relacionada al ir incrementándose y desplazándose con cada adición de aluminio. El desplazamiento de la segunda y tercera señales, puede estar asociado a la formación de los complejos y que a pH alcalino se favorezca la forma reducida del ácido kermésico.

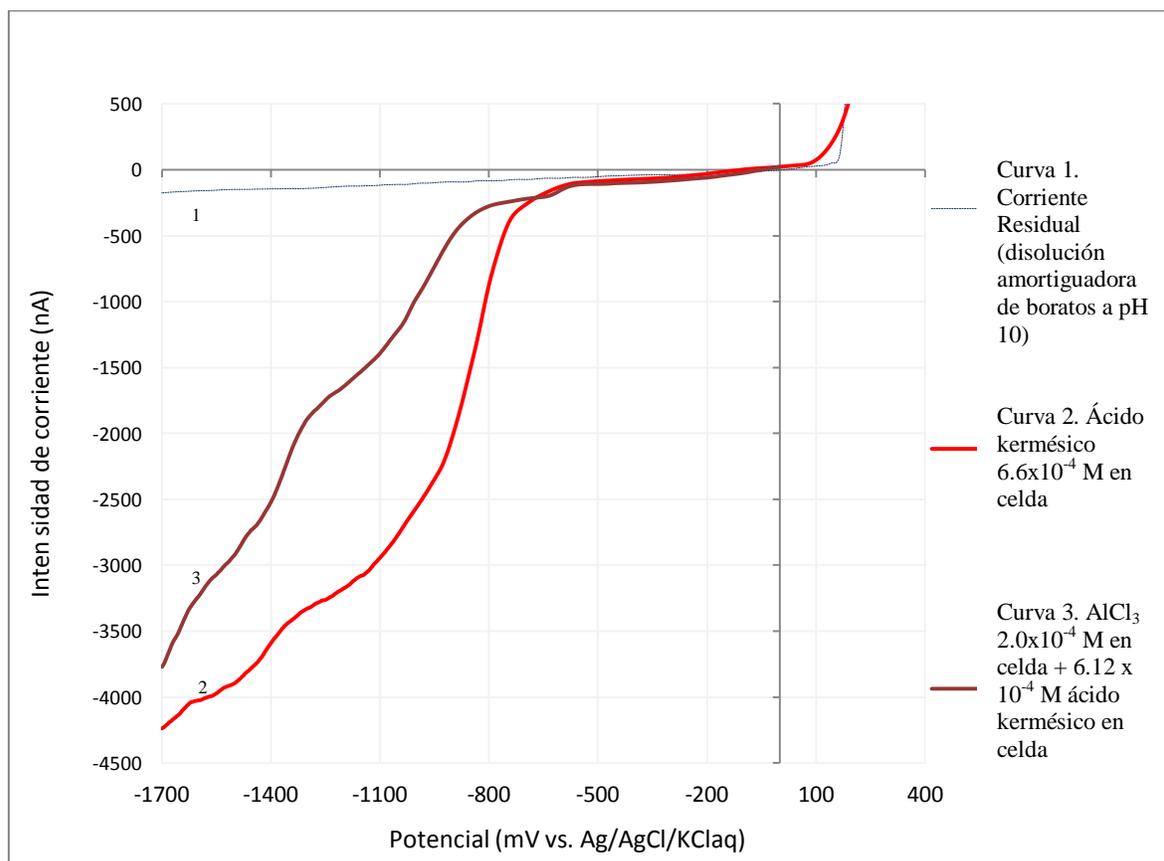


Figura 30. Polarograma clásico de la valoración de ácido kermésico con disolución de AlCl_3 0.02612 M. Ventana de potencial de -1800 mV a 200 mV, velocidad de barrido: 5 mVs^{-1} .

En la misma celda se trazaron las curvas polarográficas por el método de Impulsos (PDI) con una amplitud de pulso de 25 mV. Se realizó la valoración de ácido kermésico con las adiciones de la disolución de aluminio indicadas en la tabla 2 como ejemplo de cada ensayo; se adicionó tritón X-100™ como supresor de máximos (interferencias debido a diferencias de corriente o absorciones que modifiquen las señales; se necesitan cantidades pequeñas, frecuentemente de 0.002%).

En el polarograma de impulsos obtenido con las adiciones de cloruro de aluminio a partir de la valoración del ácido kermésico con este catión (figura 31), se observan las dos señales de reducción que se van desplazando hacia valores más negativos a medida que se hacen nuevas adiciones. La primera señal de reducción corresponde al pico con intensidad de corriente mayor, alrededor de -875 mV, se relaciona con la disminución de la concentración del ácido kermésico debida a la formación de los posibles complejos; la segunda señal de reducción se relaciona con la formación de los mismos, al irse incrementando ligeramente con el aumento en la concentración de aluminio y se ubica alrededor de -640 mV.

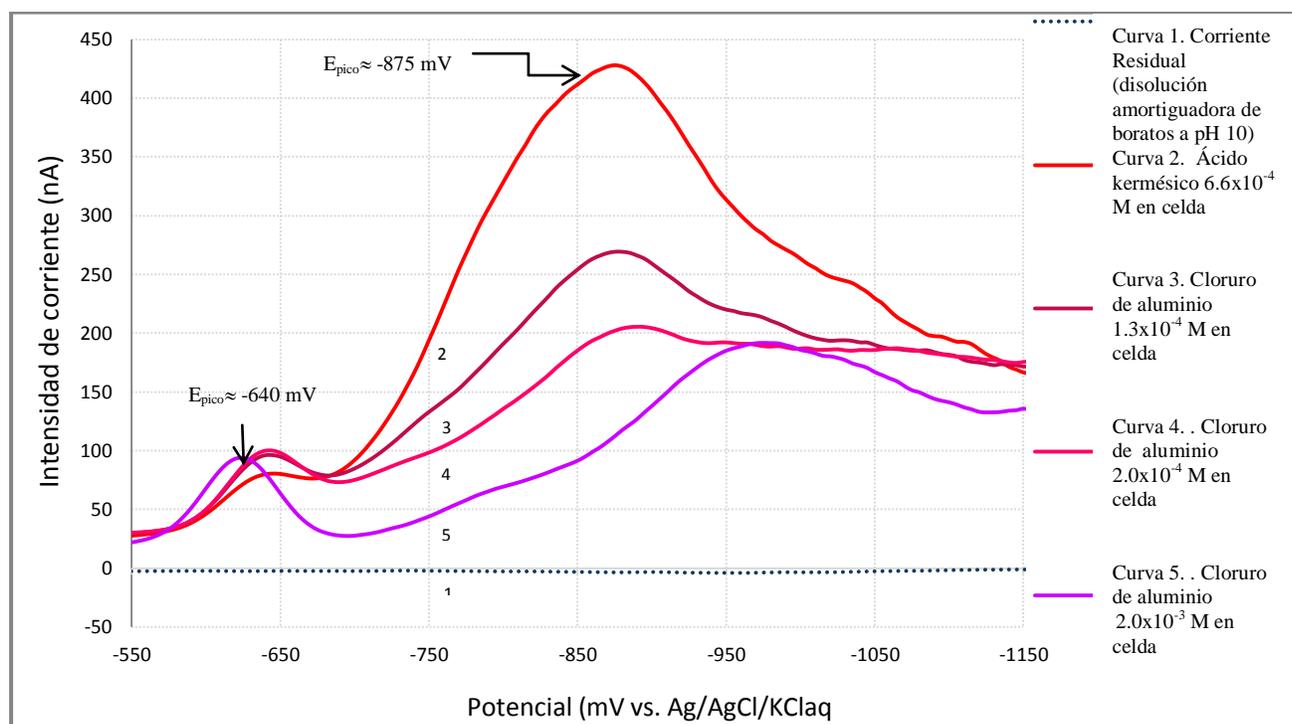


Figura 31. Polarograma diferencial de impulsos de las adiciones de la disolución de $AlCl_3$ 0.02612 M.

Dominio de electroactividad: -1800 a 200 mV.

Velocidad de barrido 5 mVs⁻¹. Amplitud de pulso 25 mV.

En la figura 32 se muestra como varía la corriente de pico respecto a la relación molar entre ácido kermésico y aluminio, obtenidos durante la valoración por polarografía diferencial de impulsos para la señal correspondiente al pico de la primera señal de reducción de mayor intensidad de corriente (-875 mV), que va disminuyendo con la adición de aluminio o la formación de los complejos; no se detectaron otras señales que indicaran la aparición de los complejos identificadas por un aumento en el crecimiento de la onda polarográfica o aumento de la intensidad de corriente.

Los cambios de pendiente en la gráfica, indican la formación de complejo; de este modo se observa la posible formación de dos complejos donde el ácido kermésico actúa como ligante. La intersección de las pendientes señala la formación de un complejo de posible estequiometría ML_3 es decir $Al(Ke)_3$ con un coeficiente de correlación lineal cercano a la unidad (r^2 0.999) y otro complejo M_3L_2 o $(Al)_3(Ke)_2$ y linealidad cercana a la unidad (r^2 0.973). Estas estequiometrias se obtuvieron después de realizar varias mediciones en los cambios de pendiente; no se presentan más cambios de pendiente que marquen la aparición de otros complejos. Los valores de intensidad de corriente fueron corregidos por el efecto de la dilución en las medidas.

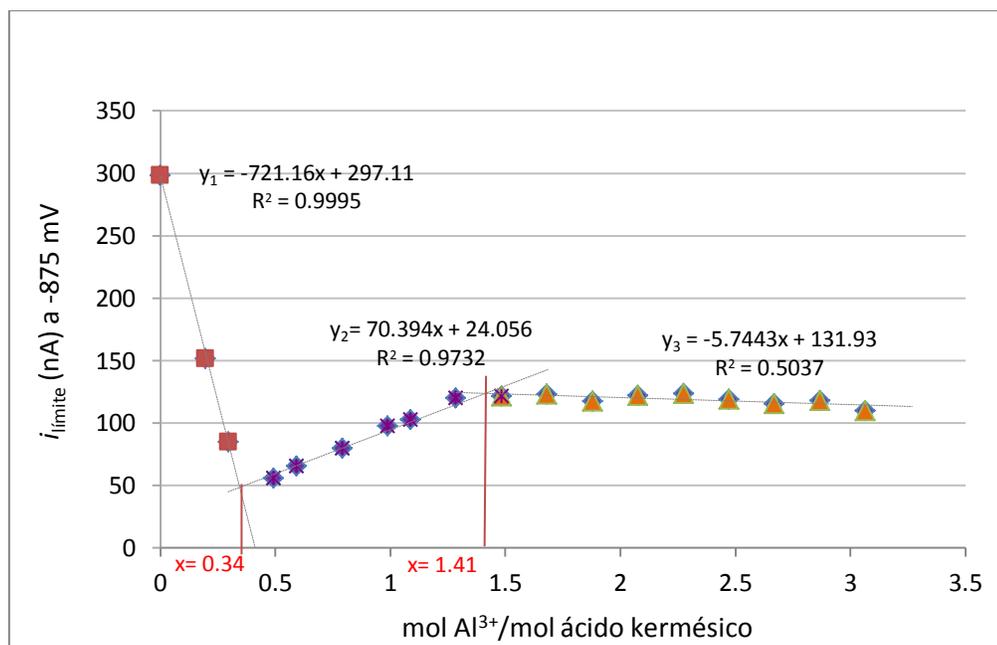


Figura 32. Valoración de ácido kermésico $3.3 \times 10^{-3} M$ con disolución $AlCl_3$ $0.02612 M$ monitoreado por polarografía diferencial de impulsos en disolución reguladora de boratos pH 10 con triton X-100TM. Valores corregidos por dilución.

5.2.7. Análisis polarográfico de ácido kermésico con calcio

El análisis se efectuó por polarografía clásica y polarografía diferencial de impulsos. Se colocaron en celda 8.0 mL de disolución reguladora de boratos pH 10, 2000 μL de ácido kermésico (6.6×10^{-4} M en celda) y se valoró con adiciones de cloruro de calcio 0.02054 M; también se adicionó tritón X-100TM (dos gotas) como supresor de máximos. La tabla 6 muestra un ejemplo de las adiciones de cloruro de calcio que se realizaron para el trazo de los correspondientes polarogramas.

Tabla 6. Adiciones de cloruro de calcio 0.02054 M.

[ácido kermésico] _{celda} = 6.6 μMol				
Vol. CaCl_2 0.02054M (μL)	μMol de CaCl_2	$[\text{Ca}^{2+}]_{\text{celda}}$ (μM)	mol Ca^{2+} / mol ácido kermésico	$E \sim -765$ mV i de pico (nA)
0	0	0	0	420
100	2.00	20.00	0.3030	332
150	3.00	30.00	0.4545	316
250	5.00	50.00	0.7575	263
350	7.00	70.00	1.0606	230
400	8.00	80.00	1.2121	205
500	10.00	100.00	1.5151	193
600	12.00	120.00	1.8181	151
650	13.00	130.00	1.9696	144
750	15.00	150.00	2.2727	124
850	17.00	170.00	2.5757	114
900	18.00	180.00	2.7272	104
1000	20.00	200.00	3.0303	101
1100	22.00	220.00	3.3333	96
1150	23.00	230.00	3.4848	80
1250	25.00	250.00	3.7878	81
1350	27.00	270.00	4.0909	70
1400	28.00	280.00	4.2424	73

En la figura 33 se muestra el polarograma obtenido por polarografía clásica; la segunda señal a potencial de media onda $E_{1/2}^2 \approx -748$ mV se desplaza a potenciales más negativos hasta $E_{1/2} \approx -765$ mV y la tercera señal a $E_{1/2}^3 \approx -910$ mV se desplazan a valores de potencial $E_{1/2} \approx -880$ mV, esto indica que la segunda señal posiblemente se desdobra, esto sugiere que se ve favorecida

la forma oxidada del ácido kermésico. La cuarta señal se mantiene casi constante, por lo que se atribuye a fenómenos que no están regidos por difusión convectiva.

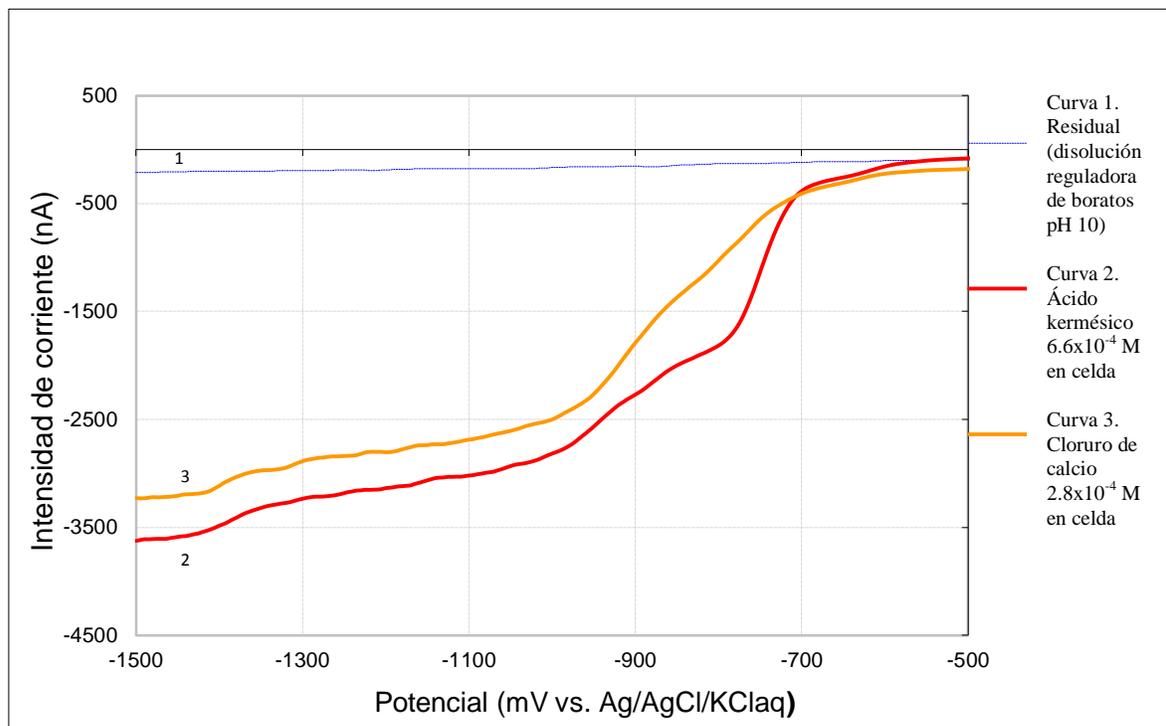


Figura 33. Polarograma clásico de la valoración de ácido kermésico con disolución de CaCl_2 0.02054 M . Ventana de potencial de -1800 mV a 200 mV , velocidad de barrido: 5 mVs^{-1} .

El polarograma de impulsos (figura 34) se trazó con las adiciones de cloruro de calcio de las relaciones molares estimadas, con una amplitud de pulso de 25 mV ; en las curvas se aprecian tres picos, el pico de la primera señal de reducción se ubica a un potencial alrededor de $E^1_{\text{pico}} \approx -765 \text{ mV}$ y va disminuyendo en intensidad con el incremento de la concentración de calcio; la segunda señal de reducción presenta un potencial de pico $E^2_{\text{pico}} \approx -640 \text{ mV}$ pero de menor intensidad de corriente que el de la primera señal; el tercer pico se atribuye a la formación de los posibles complejos al presentar un incremento en la intensidad de corriente máxima conforme se hacen nuevas adiciones de calcio a un potencial de pico alrededor de $E^3_{\text{pico}} \approx -910 \text{ mV}$.

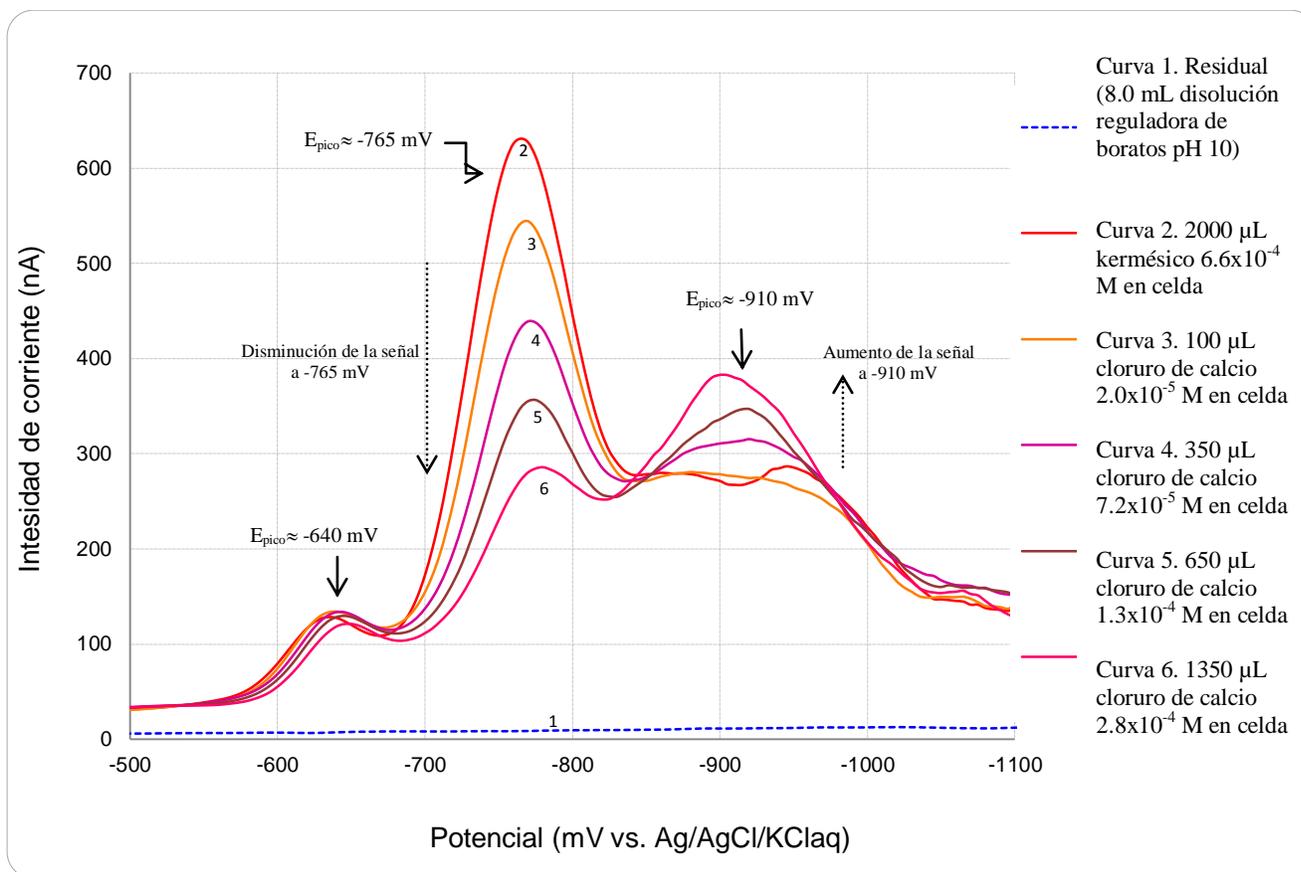


Figura 34. Polarograma diferencial de impulsos para las adiciones disolución de CaCl_2 0.02054 M.

Dominio de electroactividad: -1800 a 200 mV.

Velocidad de barrido 5mVs^{-1} . Amplitud de pulso 25 mV.

La estequiometría de los posibles complejos formados entre ácido kermésico y calcio se estimó mediante el método de relaciones molares a partir de la valoración por polarografía diferencial de impulsos pues esta técnica se caracteriza por una mayor sensibilidad para la ubicación de las señales de reducción del ácido kermésico.

La figura 35 muestra la gráfica de la relación molar de calcio respecto al ácido kermésico contra intensidad de corriente de pico, medido en la segunda señal de reducción ($E_{1/2} \approx -765$ mV); se ubican dos cambios de pendiente que indican la posible formación de dos complejos. Después de hacer una corrección por dilución a los valores de intensidad de corriente y analizar los datos, se proponen las posibles estequiometrías ML (CaKe) y M_2L (Ca_2Ke), localizados por la intersección de las rectas que presentan mejor linealidad con coeficientes de correlación lineal cercanos a la unidad.

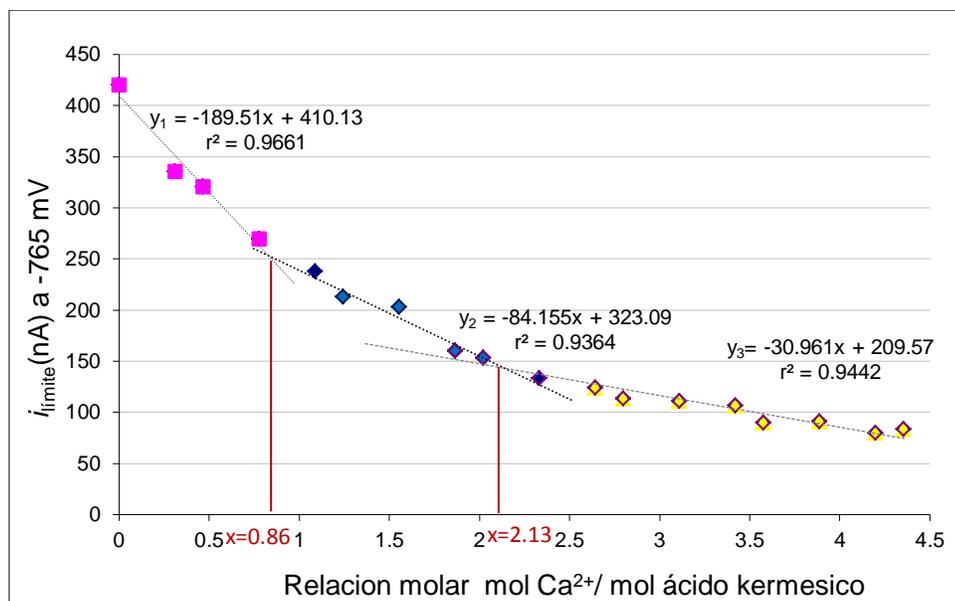


Figura 35. Valoración de ácido kermésico 3.3×10^{-3} M con disolución de CaCl_2 0.02054 M monitoreado por polarografía diferencial de impulsos en medio de boratos pH 10 con triton X-100TM Valores corregidos por dilución.

La formación de estos complejos estará determinada por varios factores tales como la estereoquímica, el grado de disociación del ácido kermésico, el pH del medio, los equilibrios secundarios que se establezcan y la competencia entre los mismos hacia el que sea favorecido por las condiciones del medio de reacción, por lo que se necesitan más estudios para determinar las condiciones óptimas de formación de cada complejo. Sin embargo, el trabajo presentado aquí permite ya poner de manifiesto estas reacciones de complejación y una forma de conocer la estequiometría y el pK_{dis} en las condiciones de trabajo.

5.2.8. Análisis polarográfico de ácido kermésico con magnesio

Para el análisis de este catión se mantuvieron las mismas condiciones que para aluminio y calcio; se valoró el ácido kermésico con sulfato de magnesio por polarografía clásica y polarografía diferencial de impulsos, se colocaron en celda 8.0 mL de disolución reguladora de boratos pH 10, dos gotas de Tritón X-100TM, 2000 μL de ácido kermésico 3.3×10^{-3} M (6.6×10^{-4} M en celda) y se realizaron adiciones de sulfato de magnesio 0.02717 M, indicadas como ejemplo para cada ensayo en la tabla 7.

Tabla 7. Adiciones de sulfato de magnesio 0.02717M.

[ácido kermésico] _{celda} = 6.6 μMol				
Vol. MgSO ₄ 0.02054M (μL)	μMol de MgSO ₄	[Mg ²⁺] _{celda} (mM)	molMg ²⁺ / mol ácido kermésico	E ~ -765 mV i de pico (nA)
0	0	0	0	453
50	1.36	0.13	0.2058	379
100	2.72	0.27	0.4116	318
125	3.39	0.33	0.5145	279
175	4.75	0.47	0.7204	246
225	6.11	0.59	0.9262	210
250	6.79	0.66	1.0291	201
300	8.15	0.79	1.2350	171
350	9.50	0.92	1.4408	164
375	10.19	0.98	1.5437	143
425	11.55	1.10	1.7495	138
475	12.91	1.23	1.9554	125
525	14.26	1.36	2.1612	116
575	15.62	1.47	2.3670	112
600	16.30	1.54	2.4700	110
650	17.66	1.66	2.6758	100
700	19.02	1.78	2.8816	98
750	20.38	1.89	3.0875	90
800	21.74	2.02	3.2933	80
850	23.09	2.13	3.4991	77

En la figura 36 se encuentran las curvas obtenidas por polarografía clásica del ácido kermésico, la última adición de sulfato de magnesio (1.3×10^{-4} M en celda) y la curva de la corriente residual. El comportamiento del ácido kermésico con este catión es similar al observado con calcio, la segunda señal a potencial ($E^{2}_{1/2} \approx -748$ mV) se desplaza a potenciales más negativos hasta un potencial de media onda alrededor de -765 mV; la tercera señal del ácido kermésico a $E^{3}_{1/2} \approx -910$ mV se desplaza hasta alrededor de $E_{1/2} \approx -870$ mV.

Posiblemente la tercera señal es la relacionada con la formación de algún complejo, ya que la intensidad de corriente aumenta casi el doble, mientras que la segunda señal disminuye prácticamente a la mitad, por lo que, la forma oxidada del ácido kermésico se ve favorecida. La cuarta señal se mantiene constante, por lo que se atribuye a fenómenos que no están regidos por difusión convectiva y no tiene relación aparente con la formación de los complejos.

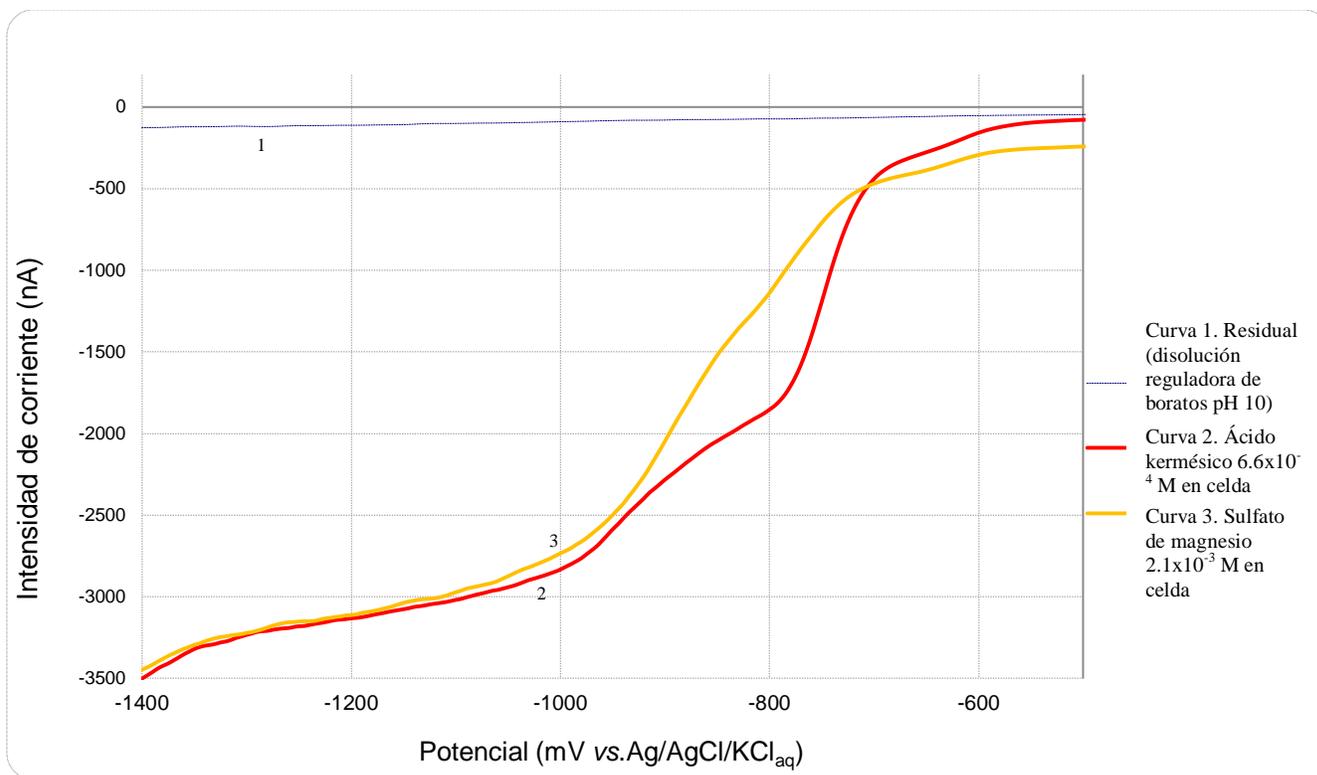


Figura 36. Polarograma obtenido por polarografía clásica, de la valoración de ácido kermésico 3.3×10^{-3} M con disolución de $MgSO_4$ 0.02717 M. Ventana de potencial: -1700 a 200 mV. Velocidad de barrido: 5 mVs^{-1} .

En el polarograma obtenido por polarografía diferencial de impulsos de la figura 37, se observan tres señales correspondientes al ácido kermésico, que se modifican y desplazan a medida que se hacen adiciones de magnesio; las ondas de reducción con potenciales de media onda alrededor de -765 y -870 mV respectivamente son las que se encuentran directamente relacionadas con la formación de los complejos formados entre ácido kermésico y magnesio, presentan un potencial de pico en -765 y -905 mV. La primera onda de pico ($E^1_{\text{pico}} \approx -640$ mV) permanece casi constante y puede atribuirse a una adsorción, la segunda señal de reducción ($E^2_{\text{pico}} \approx -765$ mV), sufre una notable disminución en la intensidad de corriente de pico, mientras que la tercera señal ($E^3_{\text{pico}} \approx -905$ mV), comienza a incrementar la intensidad de corriente de pico al incrementar la concentración de magnesio.

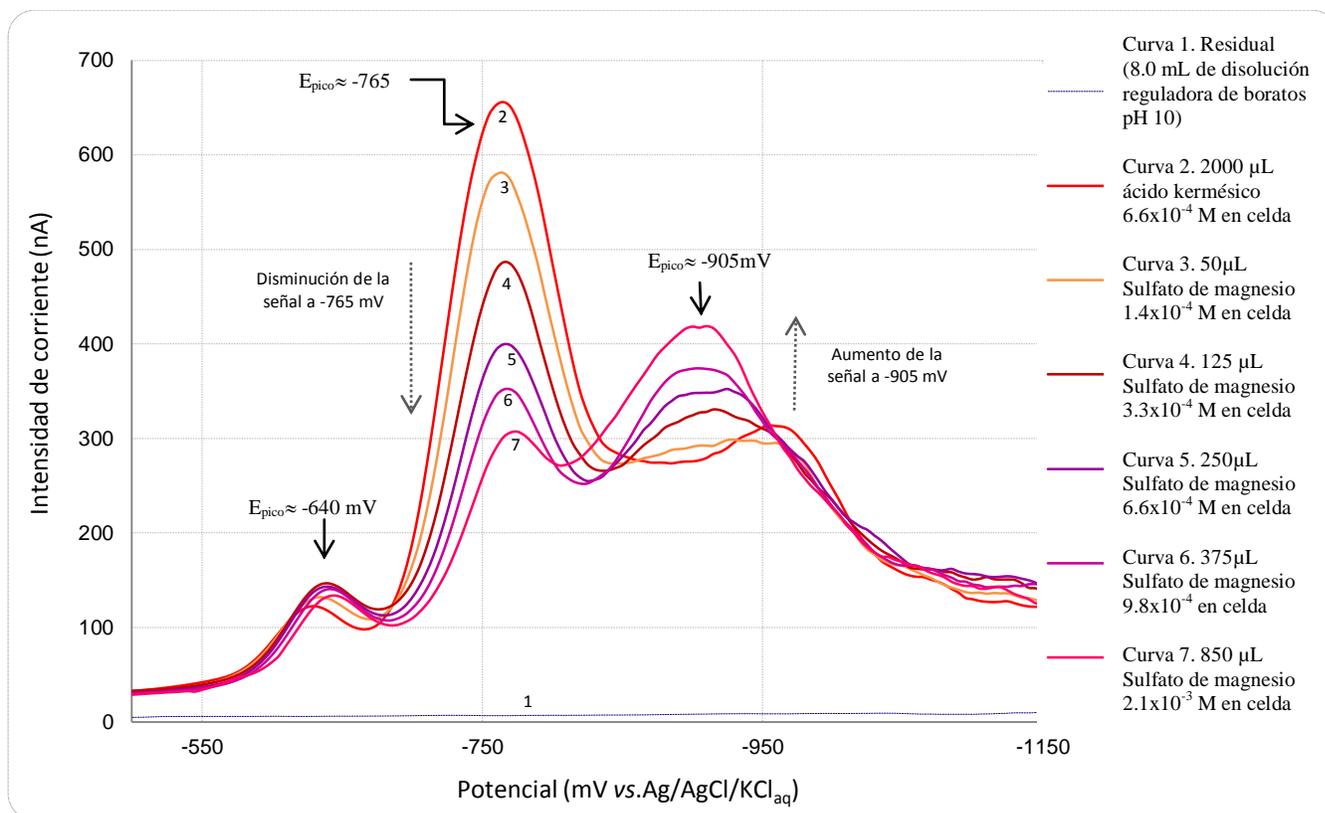


Figura 37. Polarograma diferencial de impulsos para las adiciones de la disolución de MgSO_4 0.02717 M. Amplitud de impulso 25 mV.

Las posibles estequiometrias de los complejos formados entre el ácido kermésico y el magnesio se determinaron por el método de relaciones molares, con los datos obtenidos por la técnica polarográfica diferencial de impulsos de la segunda señal a potencial de pico de $E_{\text{pico}} \approx -765$ mV, se graficó la concentración de magnesio respecto a la de ácido kermésico contra la intensidad de corriente de pico; de las ecuaciones de las rectas trazadas en la gráfica que indican los cambios de pendiente relacionados a la formación de los complejos, se determinaron las posibles estequiometrias.

En la figura 38 se muestra la gráfica de la valoración del ácido kermésico con sulfato de magnesio, con valores de intensidad de corriente corregidos por dilución; se observan dos cambios de pendiente asociado a una estequiometria ML (MgKe) y M_2L ($(\text{Mg})_2\text{Ke}$), estequiometrias similares a los complejos formados entre el ácido kermésico y el calcio.

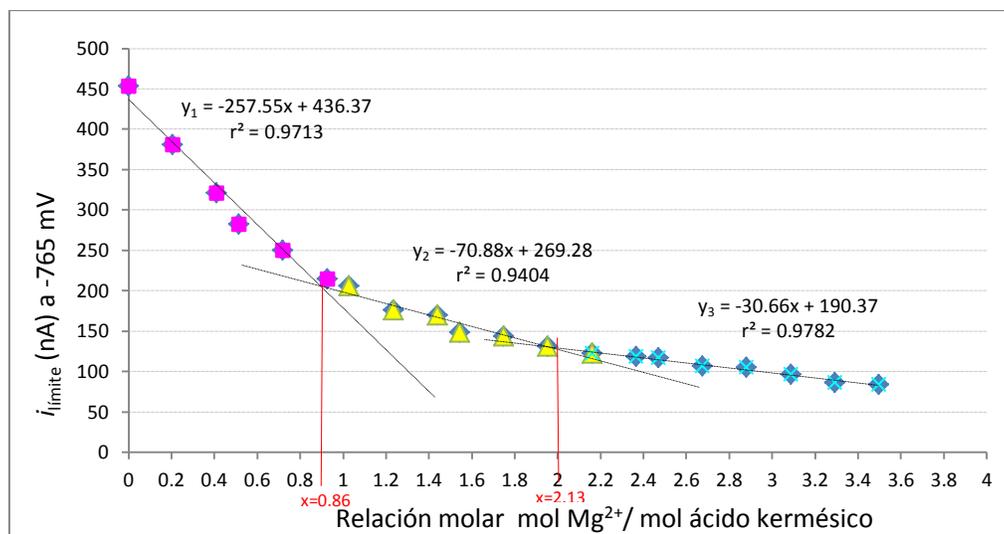


Figura 38. Valoración de ácido kermésico 0.026 M con disolución de $MgSO_4$ 0.02717 M monitoreado por polarografía diferencial de impulsos en medio de boratos pH 10 con triton X-100TM Valores corregidos por dilución.

Los posibles complejos formados entre el ácido kermésico y los cationes analizados por polarografía están condicionados al pH del medio; se observa que a pH básico se favorece la formación de los complejos formados, sobre todo con calcio y magnesio. Se necesitan realizar más estudios a diferente pH para confirmar este comportamiento.

A partir de los valores estimados de pK_{dis} se observa que los complejos formados con aluminio son más estables que los formados con calcio y magnesio y entre estos dos cationes, es más estable el complejo M_2L que el ML . El más estable es el complejo formado entre el ácido kermésico y aluminio, de estequiometría M_3L_2 (tabla 8).

Tabla 8. Complejos formados entre ácido kermésico y los cationes aluminio, calcio y magnesio

		ácido kermésico celda = 6.6×10^{-4} M		
Catión	Posibles complejos	Grado de disociación (α)	$K_{a_{disociación}}$ (estimado) (estimada)	pK_{dis} (estimado) (estimado)
Al^{3+}	ML_3	0.010	2.34×10^{-7}	6.63
	M_3L_2	0.011	5.85×10^{-7}	6.31
Ca^{2+}	ML	0.10	7.33×10^{-6}	5.13
	M_2L	0.075	4.01×10^{-6}	5.39
Mg^{2+}	ML	0.10	8.18×10^{-6}	5.09
	M_2L	0.043	1.27×10^{-6}	5.89

8. CONCLUSIONES

Se obtuvo ácido kermésico natural, a partir de grana cochinilla comercial por medio de la hidrólisis ácida del ácido carmínico extraído y se hizo una valoración ácido-base y una valoración conductimétrica. El rendimiento de extracción de ácido carmínico fue del 23.3%, dato acorde respecto a lo reportado en la literatura (alrededor de 10 al 24%) por lo que se concluye que la grana cochinilla marca "ALTECSA" cultivada en México, es de primera calidad.

El rendimiento de obtención de ácido kermésico fue del 36.8% respecto a la cantidad de ácido carmínico cuantificado; este rendimiento es relativamente bajo; sin embargo, se pueden hacer otros estudios para mejorarlo si se modifican las condiciones de obtención y purificación que disminuyan las pérdidas.

Las impurezas provenientes de restos orgánicos como proteínas y grasas afectaron la valoración del extracto de cochinilla; aunque el medio etanólico permite una mejor determinación de los puntos de equivalencia, no se observó el primer punto de equivalencia y se calculó el rendimiento a través de cálculos a partir de los pKas reportados para el ácido carmínico.

Por medio de cromatografía en capa fina se determinó el R_f del ácido carmínico (0.65) y del ácido kermésico (0.77), en una placa preparada con sílica gel como fase estacionaria, agua como disolvente y como eluyente se escogió de entre las diferentes mezclas empleadas, la mezcla 40:60 de acetato de etilo-metanol con la que se logró una polaridad que permitió la mejor separación y diferenciación de los tres compuestos de como eluyentes.

Se obtuvieron diferentes complejos en las pruebas cualitativas a la gota de diversos cationes metálicos en medio ácido y básico con el kermésico; el medio básico es el que ofrece una mayor gama de tonalidades en los complejos formados, aunque en general son menos solubles que los formados en medio ácido. Los resultados en cambios perceptiblemente más notorios en color para ambos medios fueron con fierro, calcio, aluminio y magnesio.

El estudio electroquímico fundamental del ácido Kermésico se realizó por polarografía clásica y polarografía diferencial de impulsos en nitrato de potasio 0.2 M como electrolito soporte; en este medio fue posible ubicar una señal relacionada directamente a la del kermésico a $E^{2}_{\frac{1}{2}} \approx -460$ mV

y otras dos señales atribuibles a fenómenos no regidos por difusión convectiva (como adsorciones) y con valores de $E^{1/2} \approx -325$ mV y $E^{3/2} \approx -952$ mV respectivamente.

La señal de reducción del ácido kermésico observada a $E^{2/2} \approx -460$ mV es la mejor definida y apropiada para las valoraciones en este medio, con una linealidad de 0.9945 y límite de detección de 8.2×10^{-5} mol L⁻¹ (27.2 µg mL⁻¹). Los potenciales de media onda se determinaron mediante el estudio logarítmico de las medidas de intensidad de corriente convectiva límite y el potencial para cada onda observada.

Se efectuó un análisis electroquímico entre el ácido kermésico y los cationes metálicos aluminio, calcio (lacas equivalentes de carmínico que son de uso frecuente en la industria) y magnesio en medio de boratos a pH 10, por medio de polarografía clásica y polarografía diferencial de impulsos. El medio de boratos de pH 10 permitió tener al ácido kermésico libre y facilitar la formación de los posibles complejos con los cationes estudiados. Mediante el método de relaciones molares se determinaron las posibles estequiometrías para la formación de complejos por medio de valoraciones en polarografía de impulsos.

Después del análisis de las rectas con mejor linealidad, de las valoraciones de cada catión y de la corrección de los valores de intensidad de corriente límite convectiva, para aluminio se determinaron dos posibles estequiometrías (ML₃ y M₃L₂) y se estimaron los valores de pK de complejación de 6.63 y 6.31 respectivamente; para calcio las posibles estequiometrías fueron ML y M₂L con pK de 5.13 y 5.39 y para magnesio las mismas estequiometrías que con calcio, ML y M₂L con pK del complejo de 5.09 y 5.89 respectivamente.

Las técnicas electroanalíticas permiten realizar análisis de sustancias electroactivas para caracterización química y cuantificación en una muestra problema; con frecuencia se obtienen excelentes límites de detección. Son de utilidad en la industria para detectar si un compuesto determinado está presente en el producto, es decir, en métodos de control de calidad. Tienen como grandes ventajas el que emplean pequeñas cantidades de reactivos y permiten no solamente el estudio cualitativo y cuantitativo de una sustancia sino también la determinación de condiciones para producción a mayor escala.

8.1. PERSPECTIVAS

La grana cochinilla ha sido utilizada en México desde tiempos prehispánicos, en la actualidad su producción se ha vuelto de nuevo una actividad rentable para obtener ácido carmínico, materia colorante natural utilizada en la industria. La transformación de grana cochinilla en diferentes productos como lacas de ácido carmínico y ácido kermésico amplía el panorama para fomentar el cultivo de grana cochinilla nacional e internacionalmente.

Faltan estudios a diferente pH en medios amortiguados, para conocer el comportamiento de los complejos formados de esta manera, ya que en la literatura hay muy poca información sobre ácido kermésico. En general, se hace alusión a los trabajos sobre ácido carmínico, que es muy semejante en estructura al ácido kermésico, para conocer un poco más el comportamiento químico de este compuesto. El ácido kermésico, es un colorante natural que tiene una gran gama de colores, según el pH y los cationes metálicos con los que se compleje y puede tener una gran importancia en la moderna industria alimentaria.

Los colorantes naturales han adquirido gran importancia debido a los efectos tóxicos de los colorantes sintéticos. Aunque en su obtención generalmente los rendimientos son bajos y su análisis es un poco más complejo, son productos de alta calidad por lo que es importante el estudio de diversas fuentes de colorantes en la naturaleza y de actualizar los estudios sobre los ya conocidos.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Fennema Owen R. "Química de los alimentos ". Editorial Acribia, Zaragoza España. 1993. Págs. 833-841, 849, 977-979.
2. SAGARPA. "Estudio Mundial de la Cochinilla del Nopal". Apoyos y Servicios a la Comunidad Agropecuaria (ASERCA). Fecha de publicación 10 de diciembre de 2008. Pgs. 8-36. Disponible en línea en: http://www.infoaserca.gob.mx/proafex/COCHINILLA_NOPAL.pdf (acceso el 4/10/10).
3. Todo sobre la cochinilla. ALNICOLSA del Perú S.A.C. Disponible en línea en: <http://taninos.tripod.com/Cochinilla.htm> (acceso el 3/10/10).
4. Vaclavik Vickie A. "Fundamentos de ciencia de los alimentos". Editorial Acribia, Zaragoza España. 2002. Págs. 399-407.
5. U.S. Department of Healt & Human Services. U.S. Food and Drug Administration (FDA). En línea en: <http://www.fda.gov> (acceso el 4/10/10)
6. Bechtold Thomas. "Handbook of natural colorants". Wiley interscience 2009. Págs. 6, 7, 60-62.
7. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-119-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. MATERIAS PRIMAS PARA ALIMENTOS, PRODUCTOS DE PERFUMERÍA Y BELLEZA. COLORANTES ORGÁNICOS NATURALES. ESPECIFICACIONES SANITARIAS.
8. Ibáñez F.C., et al. "Aditivos alimentarios". Nutrición y Dietética. 2003. 1(8):1-10. En línea:http://www.nutricion.org/publicaciones/revista_agosto_03/Funcionales/aditivos.pdf (acceso el 4/10/10).
9. Universidad de Córdoba. Depto. Bromatología y Tecnología de los Alimentos. "Aditivos Alimentarios". En línea: <http://www.uco.es/organiza/departamentos/bromatologia/nutybro/higienealimentaria/documentos/conferenciaaditivos.pdf> (acceso el 6/10/10).

10. Badui D. Salvador. "Química de los alimentos". Editorial Alhambra Mexicana S.A. de C.V. 1990 2ª Edición. Págs. 402, 456-462, 490.
11. Centeno Álvarez Mónica. "Extracción, estabilización y evaluaciones analíticas del carmín". Tesis de maestría en Ciencias en Tecnología Avanzada, IPN, 2003. Págs. 1-115.
12. Karapanagiotis Ioannis, et al. "Investigation of the colorants used in icons of the Cretan School of iconography". *Analytica Chimica Acta* 647(2009). 231-242.
13. Revenga Hernanz Juan Antonio. "Estudio sobre la reducción antraquinona con sulfuro sódico. Aplicación a la industria papelera" Tesis doctoral. Facultad de ciencias químicas, Universidad Complutense de Madrid, Madrid 1994. Págs. 30-33.
14. García Sánchez Miguel A. "Manual de prácticas de química orgánica II". Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. México D.F. 2002. Págs. 89,90.
15. Universidad de la Rioja. Historia. Atlas de colores. Capítulo 1. Págs. 1-18.
http://www.unirioja.es/cu/fede/color_de_vino/capitulo01.pdf (acceso 6/10/10).
16. Teoría de los colores. El color es luz. En línea: <http://www.proyectacolor.cl/teoria-de-los-colores/el-color-es-luz/> (acceso 6/10/10).
17. John Shore. Colorants and auxiliaries, organic chemistry and application properties. Vol. 1 Colorants. Second Edition. Society of Dyers and Colourists. UK. 2002. Págs. 2-18.
18. Dyes & pigments. En línea: <http://www.dyespigments.com/colour-index.html> (acceso 6/10/10).
19. Belitz – Grosch. "Food Chemistry". Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2009. 4th revised and extended Edition. Pgs. 443-467.
20. THE MERCK INDEX 12ª ed. U.S.A. 1996. Págs. 833, 834.
21. Estudio para el desarrollo del modelo de negocio replicable "Producción de grana cochinilla en condiciones de invernadero". Fondo Nacional de Apoyos para Empresas en Solidaridad. Dirección General de Impulso Productivo de la Mujer y Grupos Vulnerables. México 2011. Págs. 42-80. En línea: http://www.fonaes.gob.mx/doctos/pdf/Mod_Grana_Cochinilla.pdf (acceso 6/10/11).

22. Gijaba Segundo. "Pigmentos naturales quinónicos". Fondo editorial. Lima, Perú 1998. Págs. 71,72, 116-123
23. Aldama Aguilera, et al. "Producción de grana cochinilla (*Dactylopius coccus costa*) en plantas de nopal a la intemperie y en microtúneles". Agrocienza 2005. Vol. 39, número 002. Págs. 161- 171.
24. Villaseñor U. F. "La sangre de los dioses: *Dactylopius coccus Costa* (Hemiptera: Dactylopiidae)" disponible en línea: [http://www.tuobra.unam.mx/obrasPDF/952:\)2836:\)c.PDF](http://www.tuobra.unam.mx/obrasPDF/952:)2836:)c.PDF) (acceso 7/11/10).
25. Reyes Salas et al. "Titrimetric and Polarographic Determination of Carminic Acid and its Quantification in Cochineal (*Dactylopius coccus*) Extracts". J. Mex. Chem. Soc. 2011. 55 (2). Págs. 89-93.
26. Natural colourants and dyestuffs. Non-wood Forest Products. FAO. 1995. En línea en: <http://www.fao.org/docrep/V8879e/v8879e08.htm> (acceso 7/11/10).
27. Instituto Boliviano de Comercio Exterior. Perfil de mercado colorantes naturales cochinilla. 2009. Págs. 1-14
28. Toronto Research Chemicals Inc. Chemical Specification of Kermesic acid. 2011. <http://www.trc-canada.com/detail.php?CatNum=K163500>
29. Charlot G. "Química analítica general". Tomo IV. Toray-Masson, S.A. Barcelona España. 1977. Págs. 29-65.
30. Allevi P., et al. "A simple Transformation of Carminic Acid into Kermesic Acid". J. Org. Chem. 1987. 52, 5469-5472.
31. Dapson RW. "The history, chemistry and modes of action of carmine and related dyes". Biotechnic & Histochemistry 2007. 82(4-5): 173-187.
32. Caballero Puente H. D. "Nuevos criterios de calidad para miel basados en procedimientos electroquímicos". Tesis de licenciatura. UNAM. 2009.
33. Gutiérrez M. C. "Separación de colorantes por cromatografía de capa fina". Boletín Intexter (U. P. C.) 2002. No.122. Págs. 29-34.

34. Masschelein-Kleiner L. "Microanalysis of Hydroxyquinones in Red Lakes". *Mikrochim. Acta* 1967. 71(6):1081-1085.
35. Charlot G. "Química analítica general". Tomo II. Toray-Masson, S.A. Barcelona España. 1975. Págs. 51-132.
36. Skoog, D. A. "Principios de Análisis Instrumental". Mc Graw Hill, 5ª Ed. España. Págs. 608-609, 2001.

8. ANEXOS

8.1. CÁLCULOS DEL RENDIMIENTO Y CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO CARMÍNICO EN EL EXTRACTO DE COCHINILLA

La cuantificación del ácido carmínico presente en la grana cochinilla, se realizó por medio de la valoración ácido-base de una alícuota de 10.0 mL de extracto de grana cochinilla diluido 1:10 en etanol al 50% y haciendo adiciones de la disolución de hidróxido de sodio 0.0933 M.

El ácido carmínico es un ácido poliprótico que presenta un comportamiento de ácido débil en medio acuoso por lo que se suelen utilizar disolventes no acuosos, como los alcoholes metílico y etílico o el ácido acético glacial, que pueden aumentar la fuerza de acidez (comprendida como la reacción con el disolvente para convertirse casi completamente en el ión hidronio (H_3O^+)), del ácido carmínico y permiten una mejor diferenciación de los puntos de equivalencia.

Se realizaron adiciones de hidróxido de sodio a la alícuota de ácido carmínico con micropipeta y se midieron los cambios de pH en el pHmetro, calibrado previamente con las dos disoluciones reguladoras de pH 4 y 7 y ajustando la temperatura. En la figura 39 se muestra la curva de valoración obtenida al graficar los valores de pH medidos contra los milimoles de hidróxido de sodio agregadas (tabla 9, pág. 81); el pH se encuentra amortiguado y no se observa la valoración del protón correspondiente al grupo carboxilo ($-\text{COOH}$) de la estructura molecular del ácido carmínico.

Se consideran aproximadamente 0.19 mmol de hidróxido de sodio gastadas en promedio por cada protón valorable del carmínico en la alícuota de 10 mL de extracto (100g cochinilla/250 mL) por lo que la concentración es:

$$[(0.19\text{mmol})/(10\text{mL})]=0.019\text{M}$$

Tomando en cuenta la dilución 1:10, la concentración es

$$[\text{ácido } \succ \text{ carmínico}]=0.19\text{M}$$

Si se considera la concentración de ácido carmínico en el extracto y que su masa molar es de $492.39 \text{ g mol}^{-1}$ se tiene un rendimiento de:

$$(0.19 \text{ mol}_{\text{ácido carmínico}}) \left(\frac{250 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} \right) = 0.0475 \text{ mol}_{\text{ácido carmínico}}$$

$$(0.0475 \text{ mol}_{\text{ácido carmínico}}) \left(\frac{492.39 \text{ g}_{\text{ác. Carmínico}}}{\text{mol}} \right) = 23.3 \text{ g}_{\text{ácido carmínico}}$$

$$(100\%) \left(\frac{23.3 \text{ g}_{\text{ácido carmínico}}}{100 \text{ g}_{\text{granacochinilla}}} \right) = 23.3\%$$

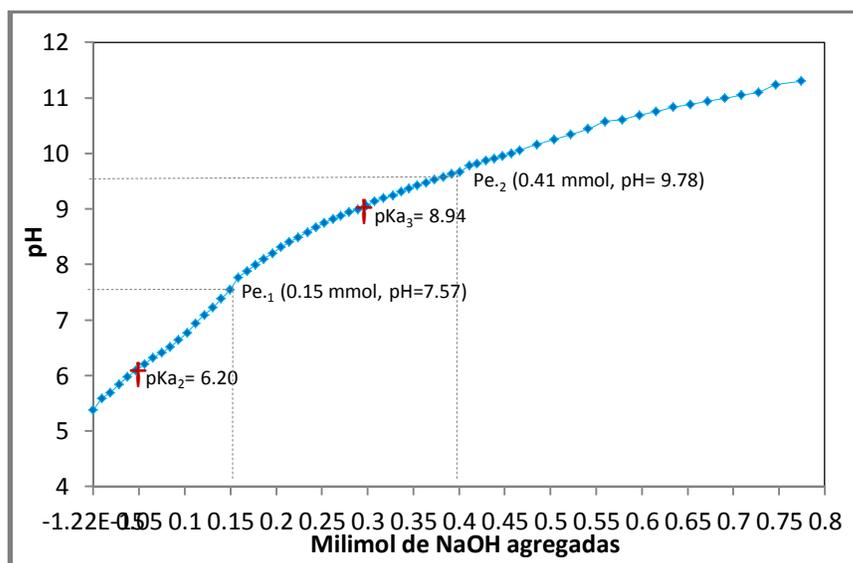


Figura 39. Valoración de ácido carmínico en 10.0 mL de extracto de cochinilla (100g cochinilla/250 mL) diluido 1:10 (equivale a 40g cochinilla/L) con disolución de hidróxido de sodio 0.0933 M en etanol al 50%.

Tabla 9. Valores de pH medidos durante la valoración del ácido carmínico con disolución de hidróxido de sodio 0.0933 M.

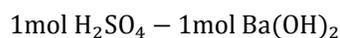
pH	mMol NaOH	pH	mMol NaOH	pH	mMol NaOH	pH	mMol NaOH
5.38	0.00000	7.38	0.13995	8.94	0.27990	10.00	0.45717
5.58	0.00933	7.54	0.14928	8.99	0.28923	9.14	0.30789
5.69	0.01866	7.76	0.15861	9.06	0.29856	10.06	0.46650
5.84	0.02799	7.88	0.16794	9.19	0.31722	10.16	0.48516
5.97	0.03732	7.99	0.17727	9.42	0.35454	10.25	0.50382
6.09	0.04665	8.10	0.18660	9.47	0.36387	10.34	0.52248
6.20	0.05598	8.20	0.19593	9.53	0.37320	10.44	0.54114
6.32	0.06531	8.31	0.20526	9.57	0.38253	10.57	0.55980
6.41	0.07464	8.40	0.21459	9.63	0.39186	10.61	0.57846
6.51	0.08397	8.49	0.22392	9.67	0.40119	10.69	0.59712
6.64	0.09330	8.58	0.23418	9.78	0.41145	10.75	0.61578
6.77	0.10263	8.67	0.24351	9.81	0.41985	10.83	0.63444
6.94	0.11196	8.75	0.25284	9.87	0.42918	10.88	0.65310
7.09	0.12129	8.82	0.26217	9.91	0.43851	10.94	0.67176
7.22	0.13062	8.87	0.27057	9.95	0.44784	10.99	0.69042

8.2. OBTENCIÓN DE ÁCIDO KERMÉSICO LIBRE DE GLUCOSA

Después de la extracción, el ácido carmínico se sometió a una hidrólisis ácida para obtener ácido kermésico (2 mL de H₂SO₄ concentrado adicionados a 100 mL de extracto y en ebullición durante 15 minutos); debido a este tratamiento el kermésico tenía un exceso de acidez? por lo que se adicionó hidróxido de bario hasta un valor de pH alrededor de 3, con la correspondiente precipitación de sulfato de bario. La cantidad de hidróxido agregada se calculó de la forma siguiente, considerando la densidad del ácido sulfúrico de 1.8 g mL⁻¹:

$$2 \text{ mL H}_2\text{SO}_4 \times 1.8 \frac{\text{g}}{\text{mL}} = 3.6 \text{ g} \times 0.98 \text{ g puros} = 3.53 \text{ g H}_2\text{SO}_4$$

$$3.53 \text{ g H}_2\text{SO}_4 \times \frac{1 \text{ mol}}{98 \text{ g}} = 0.036 \text{ mol H}_2\text{SO}_4$$



$$0.036 \text{ mol H}_2\text{SO}_4 - x = 0.036 \text{ mol Ba(OH)}_2$$

$$0.036 \text{ mol Ba(OH)}_2 \times \frac{171.34 \text{ g}}{\text{mol Ba(OH)}_2} = 6.168 \text{ g Ba(OH)}_2$$

Los 6.168 g de hidróxido de bario calculados, no fueron suficientes para elevar el pH alrededor de 3 por lo que se agregó un exceso, 7.664 g de hidróxido de bario en total. El precipitado de sulfato de bario se separó de la disolución del ácido kermésico y se sometió a varios lavados. La disolución se concentró y se llevó a un aforo de 100.0 mL.

Con el fin de separar la glucosa de la solución y tener libre al ácido kermésico, a partir de los 100.0 mL se tomó una alícuota de 10.0 mL y se añadió nitrato de bario para precipitar kermesiato de bario y facilitar la separación de la glucosa en la disolución.

8.3. CÁLCULOS DE LA CUANTIFICACIÓN Y RENDIMIENTO DE ÁCIDO KERMÉSICO EN EL EXTRACTO DE COCHINILLA

Por medio de una valoración ácido-base se cuantificó la cantidad de ácido kermésico obtenido después de someter a una hidrólisis ácida al ácido carmínico. Se tomó una alícuota de 5.0 mL de una dilución 1:10 de ácido kermésico en etanol al 50% y se valoró con disolución de hidróxido de sodio 0.0933 M; se hicieron medidas directas de pH después de cada adición de hidróxido de sodio, con el pHmetro previamente calibrado, los valores obtenidos se muestran en la tabla 10.

Tabla 10. Valores de pH medidos durante la valoración del ácido kermésico con disolución de hidróxido de sodio 0.0933 M.

pH	μMol NaOH	pH	μMol NaOH	pH	μMol NaOH	pH	μMol NaOH
2.2	0.00	4.46	55.05	7.15	63.44	9.85	78.37
2.27	9.33	4.71	55.51	7.37	64.38	9.95	79.30
2.37	18.66	4.93	55.98	7.61	65.31	10.03	80.24
2.51	27.99	5.12	56.45	7.86	66.24	10.12	81.17
2.62	32.66	5.32	56.91	8.12	67.18	10.17	82.10
2.73	37.32	5.51	57.38	8.36	68.11	10.23	83.04
2.88	41.99	5.69	57.85	8.57	69.04	10.28	83.97
2.96	43.85	5.82	58.31	8.78	69.98	10.43	86.77
3.07	45.72	5.99	58.78	8.97	70.91	10.57	89.57
3.19	47.58	6.12	59.25	9.12	71.84	10.70	93.30
3.34	49.45	6.28	59.71	9.28	72.77	10.83	97.97
3.54	51.35	6.37	60.12	9.41	73.70	10.96	102.63
3.86	53.18	6.49	60.65	9.52	74.64	11.06	107.29
4.09	54.11	6.72	61.58	9.64	75.57	11.12	111.96
4.27	54.58	6.92	62.51	9.76	77.44		

La figura 40 muestra la curva de valoración que se obtuvo después de graficar los valores de pH medidos después de cada adición de hidróxido de sodio, se observan tres cambios de pendiente posiblemente relacionados con la valoración de los grupos hidroxilo (-OH) presentes en la estructura antraquinónica de la molécula de ácido kermésico.

En la figura 41 se muestra la gráfica de la primera derivada de la valoración del ácido kermésico con disolución de hidróxido de sodio que se utilizó como guía para ubicar los puntos de equivalencia. Los milimoles al punto de equivalencia son 0.013 para cada protón a pH de 4.71,

8.12, 10.1 respectivamente, por lo que en los 5.0 mL y tomando en cuenta la dilución 1:10 se tiene una concentración de:

$$1.3 \times 10^{-5} \text{ mol}_{\text{ácido kermésico}} \longrightarrow 5 \text{ mL}$$

$$x \longrightarrow 1000 \text{ mL}$$

$$[\text{ácido kermésico}] = 2.6 \times 10^{-3} \text{ M}$$

dilución 1:10

$$[\text{ácido kermésico}] = 2.6 \times 10^{-2} \text{ M}$$

Considerando la masa molar del ácido kermésico ($330.25 \text{ g mol}^{-1}$) y su concentración en la disolución, el rendimiento de obtención en los 250.0 mL de extracto de cochinilla es de un 36.8%.

$$(2.6 \times 10^{-2} \text{ mol}_{\text{ácido kermésico}}) \left(\frac{330.25 \text{ g}_{\text{ácido kermésico}}}{\text{mol}_{\text{ácido kermésico}}} \right) = 8.58 \text{ g}_{\text{ácido kermésico}}$$

$$(100\%) \left(\frac{8.58 \text{ g}_{\text{ácido kermésico}}}{23.3 \text{ g}_{\text{ácido kermésico}}}\right) = 36.8\%_{\text{ácido kermésico}}$$

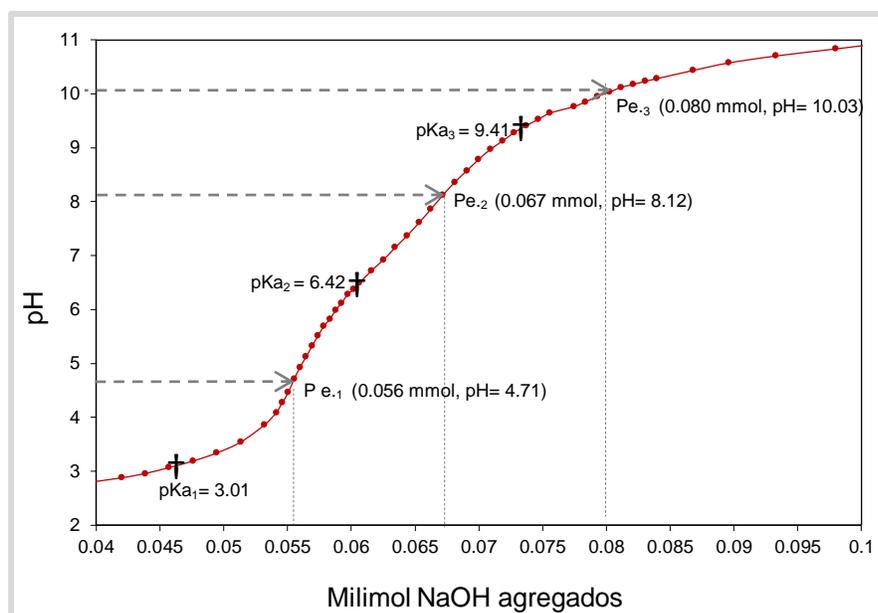


Figura 40. Valoración de 5.0 mL de ácido kermésico diluido 1:10 en etanol al 50% con disolución de NaOH 0.0933 M

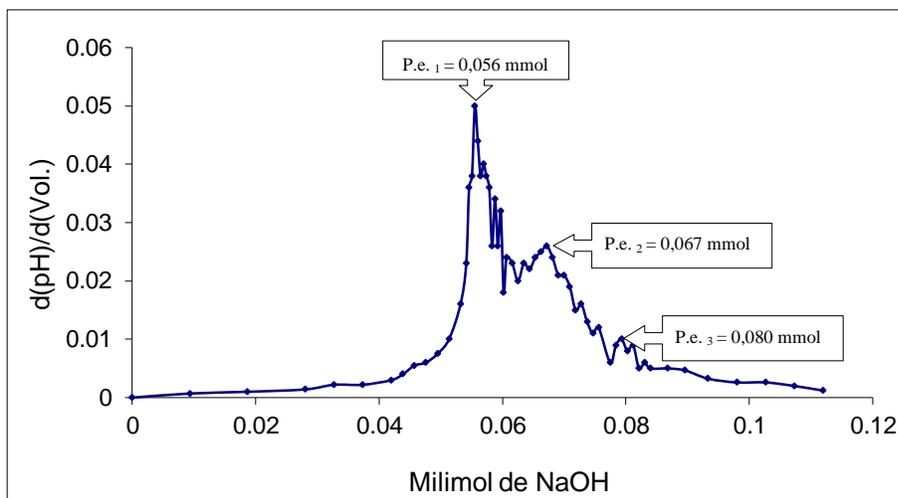


Figura 41. Primera derivada de la valoración 5.0 mL de ácido kermésico diluido 1:10 en etanol al 50% con disolución de NaOH 0.0933 M

8.4. DETERMINACIÓN DE LOS POTENCIALES DE MEDIA ONDA ($E_{1/2}$) Y DEL POTENCIAL DE PICO (E_{pico}) EN EL ESTUDIO ELECTROQUÍMICO DEL ÁCIDO KERMÉSICO.

8.4.1. Potencial de media onda ($E_{1/2}$) y potencial de pico (E_{pico}).

El potencial de media onda ($E_{1/2}$) se determinó matemáticamente, de las ondas de reducción observadas por polarografía clásica del ácido kermésico mediante un análisis logarítmico. En la figura 42 se muestra el polarograma de la segunda señal de reducción que aparece a potencial de media onda $E_{1/2} \approx -460$ mV, valor obtenido al aplicar la siguiente ecuación para procesos de reducción o catódicos, cuando no está presente el reductor conjugado (a 25 °C) ⁽³²⁾:

$$E = E_{1/2} + (0.059/n) \cdot \log(i - i_{ox}/-i)$$

La ecuación anterior para sistemas sencillos, se puede relacionar con la ecuación de una recta si se grafica el potencial en función del $\log[(i - i_{ox})/-i]$, donde el potencial de media onda ($E_{1/2}$) corresponde a la ordenada al origen:

$$E_i = E_{1/2} + \frac{0.0591}{n} \log \left[\frac{i - i_{ox}}{-i} \right]$$

$\underbrace{\hspace{1.5cm}}_{Y = \text{variable dependiente}} = \underbrace{\hspace{1.5cm}}_{b = \text{ordenada al origen}} + \underbrace{\hspace{1.5cm}}_{(m) = \text{pendiente}} \underbrace{\hspace{1.5cm}}_{(x) = \text{variable independiente}}$

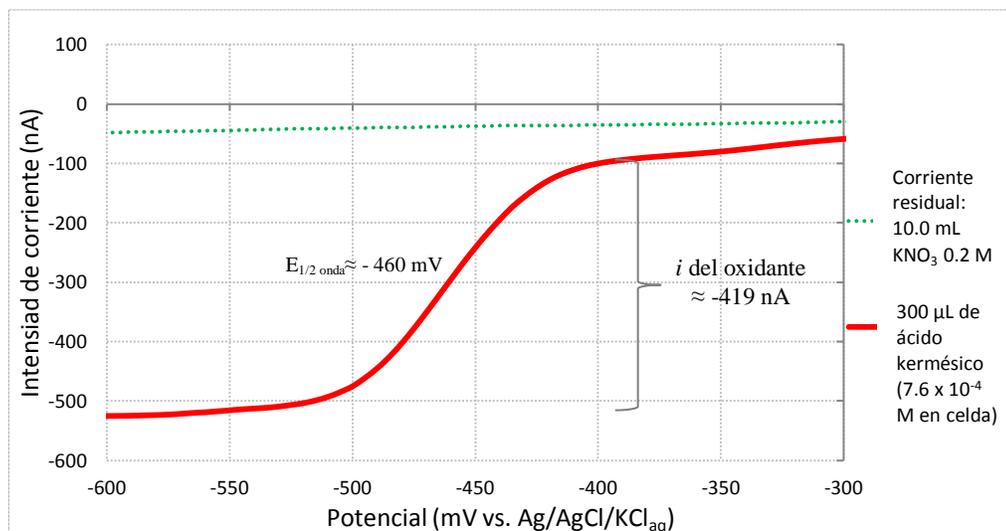


Figura 42. Polarograma clásico de ácido kermésico 2.6×10^{-2} M en KNO_3 0.2 M de la segunda señal de reducción.

Ventana de potencial de -1695 mV a 260 mV, velocidad de barrido: 5mVs^{-1} .

En la tabla 11 se muestran los resultados obtenidos del estudio logarítmico con los que se construyó la gráfica de potencial vs. $\log[(i-i_{ox})/(i_{red}-i)]$ y se obtuvo la ecuación de la recta para determinar el valor de potencial de media onda, de la segunda señal de reducción (figura 43). Con este tratamiento matemático se determinaron los potenciales de media onda de las señales de reducción observadas para el ácido kermésico en medio de nitrato de potasio 0.2 M y el de boratos a pH 10.

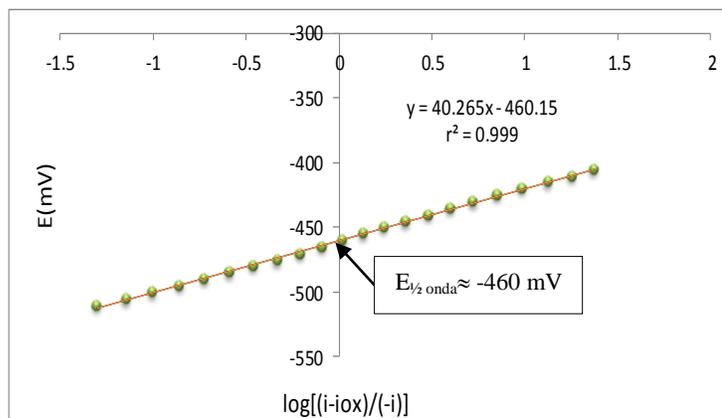


Figura 43. Estudio logarítmico de la segunda onda de reducción del ácido kermésico. Determinación del potencial de media onda.

Tabla 11. Parámetros de la ecuación de la onda polarográfica correspondiente a la segunda señal de reducción del ácido kermésico. Los valores forman parte de la zona logarítmica de la onda.

E (mV)	<i>i</i> (nA)	$(i-i_{ox})/(-i)$	$\log[(i-i_{ox})/(-i)]$
-510	-399	0.0501	-1.2999
-505	-391	0.0716	-1.1450
-500	-381	0.0997	-1.0011
-495	-368	0.1385	-0.8582
-490	-352	0.1903	-0.7204
-485	-333	0.2582	-0.5879
-480	-311	0.3472	-0.4593
-475	-286	0.4650	-0.3325
-470	-259	0.6177	-0.2091
-465	-232	0.8060	-0.0936
-460	-205	1.0439	0.0186
-455	-178	1.3539	0.1315
-450	-152	1.7565	0.2446
-445	-127	2.2992	0.3615
-440	-104	3.0288	0.4812
-435	-84	3.9880	0.6007
-430	-67	5.2537	0.7204
-425	-52	7.0576	0.8486
-420	-39	9.7435	0.9887
-415	-29	13.4482	1.1286
-410	-22	18.0454	1.2563
-405	-17	23.6470	1.3737

Los potenciales de pico de las señales de reducción del ácido kermésico ubicadas en los polarogramas trazados por polarografía diferencial de impulsos, se determinaron a partir de las mediciones que realiza el programa de computadora, Polarographic Analyzer Radiometer Analytical Trace Lab, con el que trabaja el polarógrafo utilizado (Polarógrafo Radiometer Analytical MDE 150). Este programa informa directamente el valor de la medida de corriente de pico (i_{pico}) y el potencial de pico (E_{pico}).

8.5. CÁLCULOS PARA LA GRÁFICA DE CALIBRACIÓN Y EL LÍMITE DE DETECCIÓN PARA LAS SEÑALES DE REDUCCIÓN DEL ÁCIDO KERMÉSICO EN NITRATO DE POTASIO

La relación entre la intensidad de corriente y la concentración del ácido kermésico es lineal si el estudio se mantiene bajo un régimen de difusión convectiva (donde las características del electrodo y la naturaleza del medio sean constantes). La gráfica de calibración para la segunda señal de reducción a potencial de media onda $E_{1/2} \approx -460$ mV, se obtuvo al graficar la concentración

del ácido kermésico contra el incremento en la intensidad de corriente límite, al hacer adiciones comprendidas entre 6.5×10^{-5} M a 7.6×10^{-4} M en medio de nitrato de potasio 0.2 M (tabla 12).

Tabla 12. Valores de intensidad de corriente (i) de la segunda señal de reducción del ácido kermésico de las curvas trazadas por polarografía clásica en KNO_3 0.2 M

$V_{\text{Kermésico}} (\mu\text{L})$	$[\text{kermésico}]_{\text{celda}} (\text{M})$	$i_{\text{límite}} (\text{nA})$
0	0	0
25	6.48×10^{-5}	28
50	1.29×10^{-4}	55
100	2.57×10^{-4}	133
150	3.84×10^{-4}	235
200	5.10×10^{-4}	309
250	6.34×10^{-4}	374
300	7.57×10^{-4}	428

La gráfica presentó una linealidad cercana a la unidad ($r^2 = 0.9945$), esto representa que hay una relación directa entre la concentración de ácido kermésico y la corriente límite convectiva y permite su aplicación a la cuantificación para la segunda señal de reducción (figura 44),

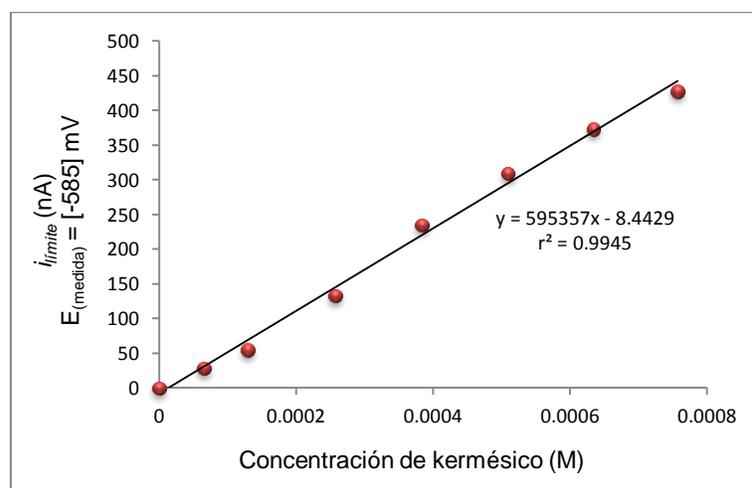


Figura 44. Curva de calibración del ácido kermésico en disolución de KNO_3 0.2 M, para la segunda onda de reducción ($E_{1/2}^2 \approx -460 \text{ mV}$).

Para calcular el límite de detección (la menor concentración de sustancia que puede detectarse) se utilizó la ecuación de la recta de calibración obtenida al realizar el tratamiento matemático de los datos del análisis del ácido kermésico por polarografía clásica para la segunda

señal. El límite de detección del método se calculó como el triple de la desviación estándar (LDD = 3σ); en la tabla 13 se muestran los valores obtenidos después de aplicar la fórmula siguiente:

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

$$S_{i/c} = \{ [\sum (i_{\text{exp}} - i_{\text{calc}})^2] / (n-2) \}^{1/2}$$

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

donde:

$S_{i/c}$: Desviación estándar de la recta

i_{exp} : Intensidad de corriente experimental

C_{exp} : Concentración de ácido kermésico en celda

m : pendiente de la ecuación de linealidad

b : Ordenada de la ecuación de linealidad

LDD: Límite de detección

Tabla 13. Límite de detección obtenido con polarografía clásica para el ácido kermésico en disolución de KNO_3 0.2 M

	C_{exp} (M)	i_{exp} (nA)	i_{calc} (nA)		$(i_{\text{exp}} - i_{\text{calc}})^2$		$(C_{\text{exp}} - C_{\text{prom}})^2$		C_{exp}^2
	6.48E-05	27	2.93E+01		362.696818		1.06E-07		4.20E-09
	1.29E-04	35	4.25E+01		184.102923		6.85E-08		1.67E-08
	2.57E-04	80	6.87E+01		139.649001		1.78E-08		6.63E-08
	3.84E-04	123	9.46E+01		215.650339		4.59E-11		1.48E-07
	5.10E-04	130	1.20E+02		193.977113		1.41E-08		2.60E-07
	6.34E-04	144	1.46E+02		24.0044789		5.91E-08		4.02E-07
	7.57E-04	149	1.71E+02		207.647345		1.34E-07		5.73E-07
$C_{\text{prom}} =$	3.91E-04			$S =$	1327.72802	$S =$	4.00E-07	$S =$	1.47E-06
$n =$	7								
$b =$	-8.4429		$S_{i/c}$	S_m	S_b		LDD (M)	LDD (ppm)	
$m =$	5.95E+05		16.2955701	2.58E+04	22.49079944		8.2×10^{-5}	27.2	



Margarodes Polonicus de Breynius Prodrumi Fasciculi Plantarum, Biblioteca de la Academia de Ciencias Naturales de Philadelphia.

*La figura muestra algunos tipos de cochinilla utilizados para teñir alfombras orientales. Las cochinillas con el número 8 y 10 habitan en robles (*Coccus ilicis*), mientras que las cochinillas 12 y 15 habitan en el nopal (*Dactylopius coccus costa*).*



***Isis extendiendo sus brazos alados
Reinado de Akenatón (1353-1336 a. C.)***

El Kermes fue utilizado en Egipto, para producir un color rojo vivo de uso frecuente en el arte y representación de sus dioses. El rojo era el color de la vida y de la victoria; durante las celebraciones los egipcios pintaban partes de su cuerpo de este color.

Figura bordada que se repite



***Manto multicolor bordado con figuras de seres mitológicos, correspondiente al periodo llamado Paracas Necrópolis (200 a.C. a 150 d.C.).
Cultura Inca, Perú.***

*Los mantos son grandes paños de tela de algodón rodeada con flecos y decorada con diseños bordados con hilos de algodón y lana, usando como técnica el "punto de ojal". Al centro, ordenados como fichas como en un tablero de ajedrez, la figura principal también bordada, es de un ser mitológico repetido muchas veces, pero con variantes de orientación y combinación de colores. Para obtener el color rojo usaron grana cochinilla (*Dactylopius coccus costa*).*



Mural del Templo Rojo, zona arqueológica de Cacaxtla, Tlaxcala.
Fundada por los olmecas-xicalancas entre 600 y 900 dC.,
significa “Lugar donde muere la lluvia en la tierra”.

El mural esta ubicado en el lado sur del templo. Con motivos acuáticos sobre un fondo rojo (grana cochinilla), muestra a un señor con elementos de ave parado sobre una serpiente emplumada, lleva en los brazos una barra ceremonial identificado como un elemento maya.



El manto teñido de kermes de Roger II, rey de Sicilia
Conocido como el manto de la coronación del santo imperio romano
Palermo, siglo XII
Seda teñida de kermes, bordada con oro, perlas y piedras preciosas
Medidas: largo 146 cm, ancho 345 cm
Colección del Kunsthistorisches Museum de Viena



Detalles del manto



La Virgen y el Niño
Alberto Durero (1500-1510)

*Sección transversal de la obra, sombras del vestido y
manto de la Virgen, pintados con kermes
National Gallery de Londres*



La Adoración de los Pastores
Giorgione (1505-1510)

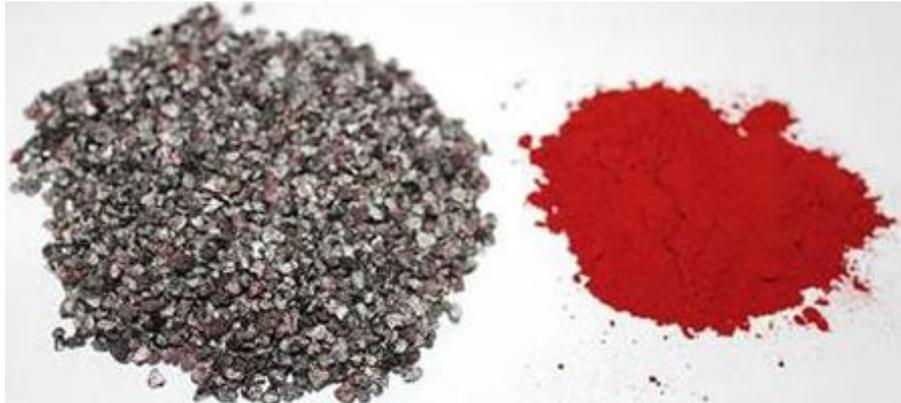
Tonos rojos en vestido y túnica pintados con kermes
National Gallery of Art, Washington, DC. USA.



Hilos teñidos con pigmentos naturales

Violetas, lavanda, romero, manzanilla, caléndula, azafrán, rubia, etc, son ejemplos de plantas de las que se pueden extraer colorantes.

Los colorantes naturales a base de frutas, hortalizas, especias, plantas, flores y animales; se han empleado desde la prehistoria con usos muy variados como teñir telas, en pinturas y murales, para impartir color a alimentos y objetos, etc.



Grana cochinilla seca y ácido carmínico



ácido carmínico

ácido carmínico
complejado con
aluminio

ácido carmínico
complejado con estaño

ácido carmínico
complejado con fierro

ácido carmínico
complejado con cromo

ácido carmínico
complejado con cobre

*Lana teñida con grana cochinilla
mordentada con aluminio, estaño, fierro, cromo y cobre*