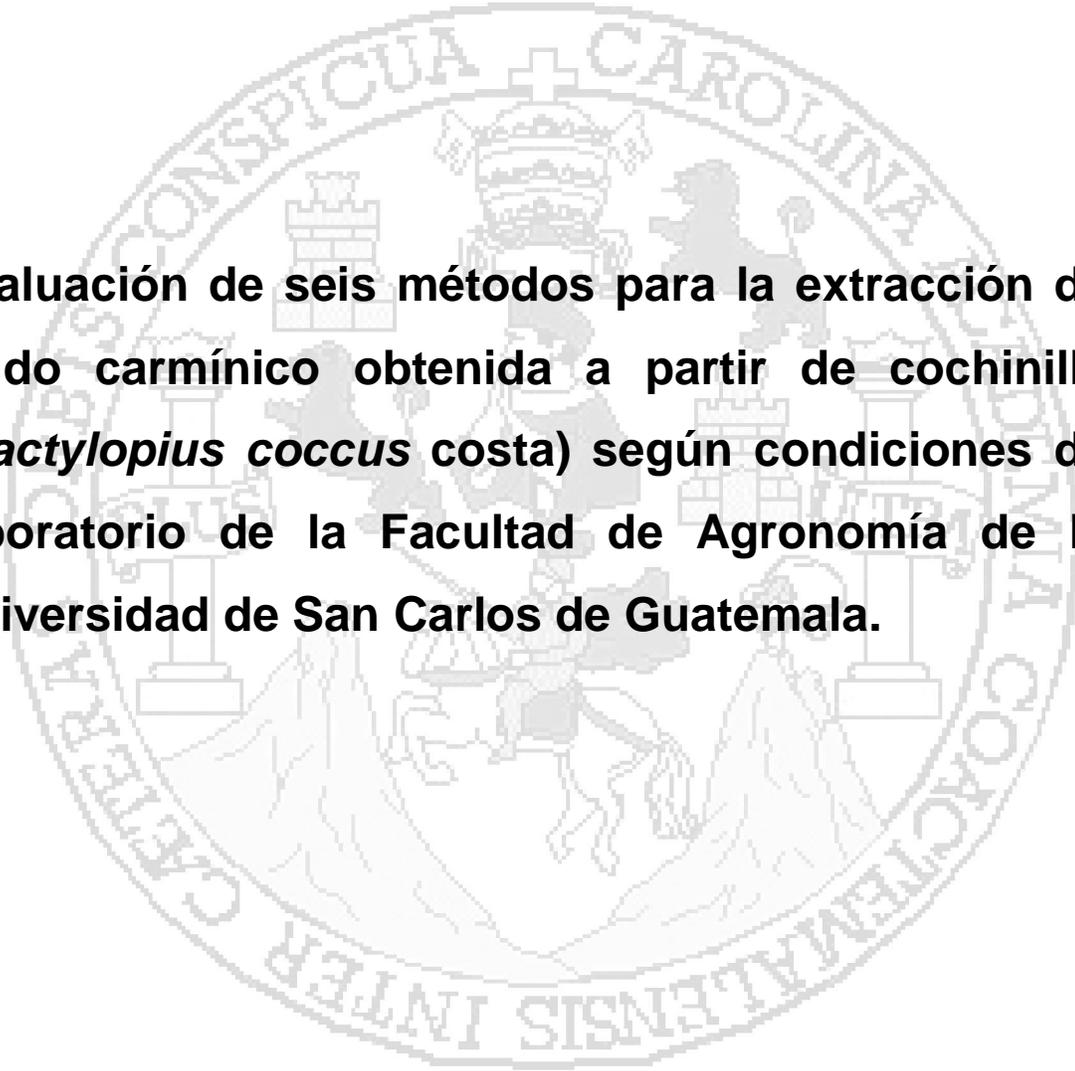


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.  
FACULTAD DE AGRONOMIA.  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRÍCOLAS



**Evaluación de seis métodos para la extracción de ácido carmínico obtenida a partir de cochinilla (*Dactylopius coccus* costa) según condiciones de laboratorio de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.**

Guatemala, marzo de 2009

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMIA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRICOLAS

**“Evaluación de seis métodos para la extracción de ácido carmínico obtenida a partir de cochinilla (*Dactylopius coccus* costa) según condiciones de laboratorio de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala”**

Tesis  
Presentada a la

Honorable junta directiva de la Facultad de Agronomía de la  
Universidad de San Carlos de Guatemala

Por  
**Mario Alberto Agreda Rodríguez**

En el acto de investidura como

**Ingeniero Agrónomo**

En

Sistemas de Producción Agrícola

En el grado académico de

**Licenciado**

Guatemala, marzo de 2009

# UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

## FACULTAD DE AGRONOMIA

RECTOR.

LIC. CARLOS ESTUARDO GÁLVEZ BARRIOS

### JUNTA DIRECTIVA

DECANO	MSc. Francisco Javier Vásquez Vásquez.
VOCAL PRIMERO	Ing. Agr. Waldemar Nufio Reyes.
VOCAL SEGUNDO	Ing. Agr. Walter Arnoldo Reyes Sanabria.
VOCAL TERCERO	MSc. Danilo Ernesto Dardón Ávila.
VOCAL CUARTO	Br. Rigoberto Morales Ventura.
VOCAL QUINTO	Br. Miguel Armando Salazar Donis.
SECRETARIO	MSc. Edwin Enrique Cano Morales.

Guatemala, marzo de 2009

Honorable Junta Directiva  
Honorable Tribunal Examinador  
Facultad de Agronomía  
Universidad de San Carlos de Guatemala

Señores miembros:

De conformidad con las normas establecidas en la ley orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración, el trabajo de graduación titulado.

**“Evaluación de seis métodos para la extracción de ácido carmínico obtenida a partir de cochinilla (*Dactylopius coccus* costa) según condiciones de laboratorio de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala”**

Presentando como requisito previo a optar el título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado de Licenciado.

Esperando que la presente investigación llene los requisitos para su aprobación, me suscribo de ustedes.

Atentamente

Mario Alberto Agreda Rodríguez.

## **ACTO QUE DEDICO**

**DIOS:** Fuente poderosa de Sabiduría y sostén en los momentos difíciles de mi vida.

**SANTISIMA VIRGEN:** Por estar en mi corazón guiando mis pasos en cada momento, gracias reina y madre.

**MIS PADRES:** María del Carmen Rodríguez y Mario Oswaldo Agreda, por ser mis guías y fuente inagotable de fuerza y amor, como premio a su trabajo, esfuerzo, dedicación simplemente quiero decirles misión cumplida, los amo.

**MI HERMANA:** Ana del Carmen Agreda Rodríguez, porque siempre has estado a mi lado, en las buenas y en las malas, dándome cariño, amor y no dejarme rendir.

**MI SOBRINO:** Mario Alejandro Ramírez Agreda, aun siendo un pequeño día a día me enseñas a sonreír cada mañana, sigue adelante y cumple tus sueños, te quiero.

**MIS ABUELOS:** Maximiliano Agreda Luna "Abuelo Max" (QEPD),  
María del Transito Godínez "Abuela Tancho" (QEPD),  
Gracias por ser mis ángeles de la guarda y protegerme siempre.

Ofelia Figueroa

Alberto Rodríguez "Papa Beto"

Doy gracias a Dios que me permite tenerlos, y a ustedes por los consejos que me han brindado.

**MI CUÑADO:** Mario Elí Ramírez, por su apoyo, sabiduría y cariño que me ha brindado estos años.

**MIS TIOS Y TIAS:** A todos mis tíos y tías por el cariño e inspiración brindada, gracias por su invaluable ayuda.

**MIS PRIMOS Y PRIMAS:** A todos mis primos y primas para que este triunfo les sirva de ejemplo para seguir adelante.

MIS AMIGOS: En especial a: Augusto Rogelio, Juan Cecilio, Alejandra Agosto, Mónica Leticia, Elvis Zacarías, Jorge Robles, Jonathan Reynoso, Jorge Cuca, Darío Morales, Tania Cadenas, José Cetino, Eduardo Pinto, César Gramajo, Rubén Maldonado, Wilson Raxón, Mynor Colindres, Estuardo Galicia y demás amigos que fueron invaluable para poder culminar mi carrera, gracias por todos los momentos inolvidables que vivimos.

LOS INGENIEROS: Inga. Agr. Teresa Hernández Chacón por su colaboración como asesora de tesis, por no dejarme claudicar en momentos difíciles y por su incondicional amistad. Ing. Agr. Byrón González por su colaboración y sabiduría aportada en mi trabajo. Y a todos los catedráticos que me brindaron su ayuda en cada clase que recibí de ellos.

## TESIS QUE DEDICO

A:

Dios: Por sobre todas las cosas.

Mis Padres: Con todo mi amor como premio a su trabajo, esfuerzo y dedicación.

Mi Familia: Gracias por su apoyo, comprensión y estímulo para seguir adelante.

Mis amigos: Como recuerdo de las experiencias compartidas y muestras de cariño.

Ingeniera: Teresa Hernández, por su asesoría y el apoyo brindado en la realización de este trabajo.

Ingeniero: Aníbal Sacbaja y su equipo de trabajo del laboratorio de Suelos, por su colaboración y apoyo en el análisis de muestras de esta investigación.

Licenciada: Julieta Salazar de Áriz, por el apoyo y colaboración durante el ejercicio profesional supervisado.

Ingeniero: Luis Felipe León, por su asesoría y apoyo brindado al comienzo de este trabajo.

Doctor: David Monterroso, por su apoyo durante el ejercicio profesional supervisado.

Las comunidades de San Pedro Pinula Jalapa, por el apoyo directo o indirecto para la realización de este trabajo.

Mi país Guatemala, Bendita tierra donde nací, y por la que luchamos diariamente para sacarla adelante.

Facultad de Agronomía.

Universidad de San Carlos de Guatemala.

## TABLA DE CONTENIDO:

<b>1</b>	<b>INTRODUCCIÓN:</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:</b> .....	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>JUSTIFICACIÓN:</b> .....	<b>4</b>
<b>4</b>	<b>MARCO TEÓRICO:</b> .....	<b>5</b>
4.1	MARCO CONCEPTUAL .....	5
4.1.1	Clasificación taxonómica de la cochinilla: .....	5
4.1.2	Biología de la cochinilla: .....	6
4.1.3	Hospedero de la cochinilla: .....	7
4.1.4	Usos frecuentes de la cochinilla: .....	8
4.1.5	Importancia económica de los derivados de cochinilla: .....	9
4.1.6	Mercado de los derivados de cochinilla: .....	10
4.1.7	Ácido carmínico: .....	11
4.1.8	Estándares de calidad de ácido carmínico: .....	11
4.1.9	Extractos de cochinilla: .....	12
4.1.10	Métodos para la obtención de extracto alcohólico: .....	12
4.1.11	Métodos de extracción de ácido carmínico en cristales: .....	13
4.1.12	Extracción de carmín o laca de cochinilla .....	14
4.1.13	Espectroscopia electrónica UV-VIS .....	16
4.1.14	Análisis espectrofotométrico: .....	16
4.1.15	Curva de trabajo: .....	17
4.1.16	Ley de Beer – Lambert .....	18
4.2	MARCO REFERENCIAL: .....	18
4.2.1	Ubicación de la investigación: .....	18
4.2.2	Origen de la cochinilla .....	19
4.2.3	Muestra patrón. ....	19
<b>5</b>	<b>OBJETIVOS:</b> .....	<b>20</b>
5.1	OBJETIVO GENERAL: .....	20
5.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS: .....	20
<b>6</b>	<b>HIPÓTESIS:</b> .....	<b>21</b>
<b>7</b>	<b>METODOLOGÍA:</b> .....	<b>22</b>
7.1	MÉTODOS DE EXTRACCIÓN: .....	22
7.2	METODOLOGÍA ESTADÍSTICA: .....	22
7.3	UNIDAD EXPERIMENTAL: .....	23
7.4	TRATAMIENTOS: .....	23
7.5	REPETICIONES: .....	24
7.6	VARIABLES DE ESTUDIO: .....	24
7.7	ANÁLISIS ESTADÍSTICO: .....	25
7.7.1	Modelo Estadístico: .....	25
7.7.2	Análisis de la información: .....	25

<b>8 RESULTADOS:</b>	<b>26</b>
8.1 CURVA DE TRABAJO.....	26
8.2 RESULTADOS DE CONCENTRACIÓN DE ÁCIDO CARMÍNICO: .....	26
8.2.1 Análisis de varianza concentración de ácido carmínico. ....	27
8.2.2 Comparación de medias de concentración de ácido carmínico utilizando la metodología de Tukey. ....	27
8.3 PH MEDIDO EN LAS MUESTRAS. ....	28
8.3.1 Análisis de varianza:.....	29
8.3.2 Comparación de medias del pH medido a las muestras de ácido carmínico utilizando la metodología de Tukey. ....	29
8.4 PORCENTAJE DE PROTEÍNAS CONTENIDAS EN LAS MUESTRAS. ....	30
8.4.1 Análisis de varianza.....	30
8.4.2 Comparación de medias del porcentaje de proteínas de los métodos de extracción de ácido carmínico utilizando la metodología de Tukey.....	31
8.5 RENDIMIENTO Y PRODUCCIÓN TOTAL:.....	32
8.6 DISPONIBILIDAD DE EQUIPO DE LABORATORIO:.....	32
8.7 INGRESOS: .....	33
8.8 INVERSIÓN INICIAL O COSTOS FIJOS: .....	34
8.9 COSTOS DE OPERACIÓN O COSTOS VARIABLES: .....	34
8.10 RENTABILIDAD: .....	34
<b>9 DISCUSIÓN DE RESULTADOS:</b>	<b>36</b>
<b>10 CONCLUSIONES:</b> .....	<b>40</b>
<b>11 RECOMENDACIONES:</b> .....	<b>41</b>
<b>12 BIBLIOGRAFÍA:</b> .....	<b>42</b>
<b>13 ANEXOS:</b> .....	<b>44</b>
13.1 GLOSARIO: .....	44
13.2 FOTOGRAFÍAS DE PRODUCCIÓN DE COCHINILLA EN GUATEMALA. ....	46

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Especies pertenecientes al género <i>Dactylopius</i> .....	5
Cuadro 2 Especies hospederas de <i>Dactylopius coccus</i> : .....	8
Cuadro 3 Distintos colores que se pueden obtener del ácido carmínico. ....	9
Cuadro 4 Colores de luz visible.....	17
Cuadro 5 Tratamientos a evaluar (métodos de extracción de ácido carmínico) .....	23
Cuadro 6 Orden de tratamientos y repeticiones de la primera fase.....	23
Cuadro 7 Datos de las distintas diluciones realizadas para obtener curva de trabajo .....	26
Cuadro 8 Concentración de ácido carmínico en cada método de extracción (%). ....	26
Cuadro 9 Análisis de la varianza de la concentración de ácido carmínico.....	27
Cuadro 10 Cuadro de análisis de la varianza de la concentración de ácido carmínico.....	27
Cuadro 11 Comparación de medias de Tukey .....	27
Cuadro 12 pH de las muestras de cada método de extracción. ....	28

Cuadro 13 Análisis de la varianza de pH de las muestras.....	29
Cuadro 14 Cuadro de análisis de la varianza de pH de las muestras.....	29
Cuadro 15 Comparación de medias de Tukey del pH de las muestras .....	29
Cuadro 16 Análisis de la varianza de porcentaje de proteína.....	30
Cuadro 17 Cuadro de análisis de la varianza de porcentaje de proteína.....	30
Cuadro 18 Comparación de medias Tukey de porcentaje de proteína .....	31
Cuadro 19 Comparación de porcentaje de proteínas de todos los métodos.....	31
Cuadro 20 Comprobación de estándares de calidad por método de extracción.....	32
Cuadro 21 Cantidad extraída de ácido carmínico por metodología en mL. ....	32
Cuadro 22 Equipo de laboratorio y reactivos del mejor método de extracción. ....	33
Cuadro 23 Ingresos de la venta de ácido carmínico.....	33
Cuadro 24 Inversión o costos fijos. ....	34
Cuadro 25 Costos variables o de operación.....	34

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Estructura química del ácido carmínico (Bhatta y Venkataraman, 1965).....	11
--	----

## ÍNDICE DE GRAFICOS

Gráfico 1 Curva de trabajo de la muestra patrón.....	26
Gráfico 2 Comparación de concentración de ácido carmínico de todos los métodos .....	28
Gráfico 3 Comparación de pH de todos los métodos de extracción de ácido carmínico... ..	30

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1 Adultos de Cochinilla en un Nopal. ....	6
Ilustración 2 Colocación del pie de cría en una penca de nopal.....	7
Ilustración 3 Penca de Opuntia infestada con <i>D. coccus</i> ubicada en San Pedro Pinula, Jalapa.....	7
Ilustración 4 Espectrómetro Perkin-Elmer Lambda 11 y celdas de cuarzo de 10 mm. ....	16

## RESUMEN

**“Evaluación de seis métodos para la extracción de ácido carmínico obtenida a partir de cochinilla (*Dactylopius coccus costa*) según condiciones de laboratorio de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala”**

**“Evaluation of six methods for the extraction of ácido carmínico beginning from of cochinilla (*Dactylopius coccus costa*) depending on circumstances of laboratory of the faculty of agronomy of the University of San Carlos de Guatemala”**

El aumento de la demanda por tintes orgánicos a aumentado desde la década de los noventa, aumentándose en a principios de este siglo debido a que se ha demostrado que los tintes sintéticos (artificiales) han provocado daños en la salud humana, ya que se han registrado casos de alergias, además que se ha encontrado que muchos de ellos pueden inducir a la formación de tumores cancerosos, esto ha provocado que la Agencia de medicamentos y alimentos (FDA) de Estados Unidos y la Organización Mundial de la Salud (OMS) prohíban utilizar colorantes sintéticos en alimentos, cosméticos y medicina, por ser perjudiciales en la salud, agregando que el aumento de precio de productos derivados de petróleo para fabricar tintes artificiales a repercutido en el aumento del uso de tintes naturales.

El mercado guatemalteco de ácido carmínico es amplio ya que principalmente es usado por empresas cosméticas y de embutidos, estando obligadas a comprar ácido carmínico a empresas transnacionales que son las únicas que producen ácido carmínico.

Los precios de la cochinilla seca sin procesar han sido muy oscilantes en los últimos años, para el año de 1,998 el precio era de US\$ 40.00 el kilogramo, este mismo ha ido descendiendo para situarse en el año 2,000 en US\$ 30.<sup>00</sup> el kilogramo. Mientras el precio promedio del carmín se encontraba en 1,998 a US\$ 120.<sup>00</sup> los 60 mL para situarse en el 2,007 en US\$ 150.<sup>00</sup> los 60 mL de ácido carmínico.

Se puede comprobar que la mejor metodología para extracción de ácido carmínico en condiciones de laboratorio de la Facultad de Agronomía es la extracción de ácido carmínico con carbonato de potasio, obteniéndose diferencia significativa al realizar análisis de varianza completamente al azar, colocándose siempre como el mejor método en la comparación de medias de TUKEY, con relación a su porcentaje de ácido carmínico, porcentaje de proteínas y su pH, siendo el único que cumple con los estándares de calidad que exige la FDA, obteniéndose un 20.53 % de ácido carmínico, un pH de 7.58 y un 1.57 % de proteína, encontrándose ausente el arsénico y el plomo.

Para realizar el análisis espectrofotométrico se utilizó la longitud de onda de 494 nm para medir la absorbancia de las muestras, se utilizó un valor que se encuentre en el rango máximo (500 nm es el máximo para lecturas de color rojo) debido a que puede tener problemas con relación a la ley de Beer, esta nos indica que se encuentra relacionada la absorción de la luz de la muestra con las propiedades del material atravesado, al cumplirse la ley podemos estar seguros que la curva es relativamente aplanada alrededor del máximo de la longitud de onda, de manera que apenas varía la absorbancia, es decir es constante la absorbancia a lo largo de la banda escogida de longitudes de onda sin importar la concentración de la muestra.

El laboratorio de cultivo de tejidos de la Facultad de Agronomía utilizado para realizar las extracciones de ácido carmínico cumple con los materiales y reactivos para poder realizar dichos procedimientos, no existe limitante para poder realizarlas en este laboratorio.

En cuanto al análisis económico se pudo comprobar que es rentable ya que se obtiene una rentabilidad de Q40.81 es decir que por cada Q1.00 que se invierte se obtiene una ganancia de Q0.40. Siendo una buena opción para los productores de cochinilla ya que pueden obtener otra fuente de ganancias diversificando sus productos.

El color y la fuerza del carmín no dependen solamente de la concentración de ácido carmínico, están también relacionados el factor ambiental en las que fueron producidas en las comunidades, se pueden separar lotes por comunidad para determinar qué comunidad posee mejores condiciones ambientales para la producción de cochinilla de alta calidad.

## 1 INTRODUCCIÓN:

La cochinilla (Dactylopiidae: *Dactylopius coccus* Costa) es un insecto que vive como huésped de la tuna, especialmente en la especie *Opuntia ficus-indica* (L) Mill, alimentándose del clorénquima. La importancia de este insecto es que produce ácido carmínico el cual se extrae de diversas maneras para transformarlo en un polvo fino color rojo púrpura intenso, que se comercializa en extracto líquido, para ser utilizado como colorante orgánico en la industria alimentaria, farmacéutica, textil y de cosméticos (Pérez y Becerra, 2001)

El aumento de la demanda por tintes orgánicos en la década de los noventa del siglo pasado y a principios de este siglo se debe a que se ha demostrado que los tintes sintéticos (artificiales) han provocado daños en la salud humana, ya que se han registrado casos de alergias, además que se ha encontrado que muchos de ellos pueden inducir a la formación de tumores cancerosos, esto ha provocado que la Agencia de medicamentos y alimentos (FDA) de Estados Unidos y la Organización Mundial de la Salud (OMS) prohíban utilizar colorantes sintéticos en alimentos, cosméticos y medicina, por ser perjudiciales en la salud (Walford, 1984; Kornbrust y Bafknocht, 1985). Por esta razón el mercado del ácido carmínico se ha incrementado en los últimos años de tal manera que Perú sextuplico su producción en los últimos 23 años (Programa nacional de grana-cochinilla, 1999). Lo que ha generado que tantos países productores ó potencialmente productores como Guatemala se interesen en participar en la producción de cochinilla.

Se han realizado varios procedimientos para la extracción de ácido carmínico en otros países. Para realizar la extracción del ácido se ha escogido los más sencillos para la extracción estos son: extracción alcohólica con carbonato de potasio, extracción alcohólica con carbonato de sodio, obtención de ácido carmínico en cristales por los métodos: Japonés y Alemán, para la obtención de carmín en polvo (laca colorante) se pueden mencionar los métodos: Inglés y Carré.

Por sus condiciones ambientales Guatemala es un potencial productor de cochinilla, además el origen de *Dactylopius coccus* es en Mesoamérica, por lo que puede ser factible la producción de cochinilla. Se está empezando una producción de cochinilla en el departamento de Jalapa, Ubicada en el Municipio de San Luís Jilotepeque y en San Pedro Pinula, una alternativa para producir y comercializar tanto nacional como internacional los derivados de la cochinilla diversificando así los productos de exportación con los que se cuenta, además de ir fortaleciendo el interés por otros cultivos generando nuevas fuentes de ingresos.

Se puede comprobar que la mejor metodología para extracción de ácido carmínico en condiciones de laboratorio de la Facultad de Agronomía es la extracción de ácido carmínico con carbonato de potasio, obteniéndose diferencia significativa al realizar análisis de varianza completamente al azar, colocándose siempre como el mejor método en la comparación de medias de TUKEY, con relación a su porcentaje de ácido carmínico, porcentaje de proteínas y su pH, siendo el único que cumple con los estándares de calidad que exige la FDA, obteniéndose un 20.53 % de ácido carmínico, un pH de 7.58 y un 1.57 % de proteína, encontrándose ausente el arsénico y el plomo.

En cuanto al análisis económico se pudo comprobar que es rentable ya que se obtiene una rentabilidad de Q40.81 es decir que por cada Q1.00 que se invierte se obtiene una ganancia de Q0.40. Siendo una buena opción para los productores de cochinilla ya que pueden obtener otra fuente de ganancias diversificando sus productos.

El mercado guatemalteco de ácido carmínico es amplio ya que principalmente es usado por empresas cosméticas y de embutidos, estando obligadas a comprar ácido carmínico a empresas transnacionales que son las únicas que producen ácido carmínico.

## 2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

Guatemala es un país que depende de la agricultura, el 23% del PIB es generado por ésta y tres cultivos tradicionales son los más importantes: banano, café, y caña de azúcar que aportan 5.71%, 4.56% y 3.5% de PIB respectivamente por sus exportaciones (Banguat, 2007). Estos tres productos representan el 57% del PIB agrícola. Ante la apertura de nuevos mercados internacionales, es necesario diversificar los cultivos para ofrecer más variedad de productos de exportación, con lo cual ya no se dependería económicamente de unos cuantos cultivos. Una oportunidad es el mercado de los derivados de la cochinilla porque se encuentra en crecimiento y es de fácil acceso.

Guatemala está incursionando en la cría de cochinilla, cuenta con una producción en los municipios de San Luís Jilotepéque y San Pedro Pinula del departamento de Jalapa. Los productores no tienen el conocimiento, ni las instalaciones para que su producción pueda procesarse y luego comercializarse tanto para el mercado nacional como el internacional, y aprovechar la demanda que existe del colorante que se obtiene de la cochinilla que puede utilizarse en varias industrias como alimentos, medicina, textil y de cosméticos.

En países como Perú y España se han evaluado distintos métodos de extracción de ácido carmínico para sus distintas presentaciones (extracto líquido, ácido carmínico en cristales y carmín en polvo o laca concentrada), entre los más importantes se puede mencionar: el extracto alcohólico colorante con carbonato de potasio, extracto alcohólico con carbonato de sodio, método japonés, método alemán, método de Carré y el método inglés.

Estos métodos no han sido probado para condiciones tecnológicas de laboratorio con las que se cuentan en la facultad de agronomía para poder realizar las extracciones así poder procesar e industrializar la producción con la que se cuenta en el país, para la posterior divulgación de los procesos a los productores de cochinilla del país.

### 3 JUSTIFICACIÓN:

La cochinilla puede ser una alternativa para la diversificación agrícola, ya que tiene variedad de usos en la industria, para que Guatemala no dependa de los mismos cultivos para obtener ingresos, una economía es frágil si depende de pocos cultivos, que además son materia prima y dejan poco margen de ganancia.

Los precios de la cochinilla seca sin procesar han sido muy oscilantes en los últimos años, para el año de 1,998 el precio era de US\$ 40.<sup>00</sup> el kilogramo, este mismo ha ido descendiendo para situarse en el año 2,000 en US\$ 30.<sup>00</sup> el kilogramo. Mientras el precio promedio del carmín se encontraba en 1,998 a US\$ 120.<sup>00</sup> los 60 mL para situarse en el 2,007 en US\$ 150.<sup>00</sup> los 60 mL de ácido carmínico (Anchundia Et al, 2007). Por el proceso de extracción se sextuplicó el precio, por esta razón es que los países importadores prefieren comprar la materia prima para procesarlo y comercializar el producto final.

Guatemala posee producción de cochinilla en la región del sur oriente del país en el departamento de Jalapa, Municipio San Luis Jilotepeque y en San Pedro Pinula. La Facultad de Agronomía puede ser la opción viable para la industrialización de los derivados de cochinilla por contar con el equipo y tecnología para procesarla, cuenta con personal calificado que puede realizar los procedimientos que se utilizan para la extracción del ácido carmínico.

Se evaluó si en los laboratorios de la FAUSAC se puede establecer algún método de extracción de ácido carmínico rentable para poder procesar la producción. Para luego divulgar los conocimientos obtenidos a los productores de la región oriental del país

## 4 MARCO TEÓRICO

### 4.1 MARCO CONCEPTUAL

#### 4.1.1 Clasificación taxonómica de la cochinilla:

La clasificación taxonómica de la cochinilla es la siguiente:

Phyllum:	Arthropoda
Clase:	Insecta
Orden:	Heteróptera
Sub-Orden:	Homóptera
Familia:	Dactylopiidae
Genero:	<i>Dactylopius</i>
Especie:	<i>Dactylopius coccus</i> Costa

El género *Dactylopius* pertenece a la familia Dactylopiidae del Sub-orden Homóptera, y comprende de nueve especies (Ver Cuadro 1), de las cuales 5 están presentes en Norteamérica (MacGregor, 1975) y 6 en Sudamérica (Zimmermann, 1978). Según MacGregor (1975) el centro de dispersión de éste género podría ubicarse en la región mesoamericana. De las nueve especies descritas solamente *Dactylopius coccus* Costa. Es la única especie cultivada para la obtención de pigmentos, por lo que se denomina grana fina o cultivada. El resto de especies constituyen un grupo denominado grana silvestre o corriente (Portillo, 1992).

Cuadro 1 Especies pertenecientes al género *Dactylopius*.

1	<i>D. austrinus</i> De Lotto.
2	<i>D. ceylonicus</i> Green.
3	<i>D. coccus</i> Costa.
4	<i>D. confertus</i>
5	<i>D. confusus</i> Crockerell.
6	<i>D. opuntiae</i> Crockerell.
7	<i>D. salmianus</i>
8	<i>D. tomentosus</i> Lamark.
9	<i>D. zimmermannii</i> Zimmermann.

El ciclo biológico de *D. coccus* tiene una duración de 90 a 150 días según sean las condiciones de desarrollo. Este comprende: el estado de huevo, dos estados ninfales y el estado adulto que muestra un dimorfismo sexual. Luego de eclosionado el huevo, las ninfas I se movilizan hasta ubicarse en un lugar de la planta donde puedan alimentarse. Ya ubicadas, estas permanecen sésiles un tiempo; en este momento, aparece una cubierta cerosa de filamentos blanquecinos, hasta la muda que dará lugar a la etapa de ninfa II. Luego la hembra muda por segunda vez hasta emerger como hembra adulta; al madurar sus huevos empieza su postura, denominándose a este estado hembra oviplena (OV). El macho construye un capullo en el cual pasa de pupa hasta adulto alado (Marín y Cisneros, 1977).



Ilustración 1 Adultos de Cochinilla en un Nopal.

#### 4.1.2 Biología de la cochinilla:

Dado que la cochinilla naturalmente se desarrolla en regiones áridas y semiáridas, dentro de los factores que más favorecen el desarrollo de ésta se pueden encontrar: la temperatura que debe oscilar entre 20°C y 32°C (Méndez et al., 1990). La humedad relativa entre 40 y 75%, con precipitaciones de 100 a 700 mm. Anuales (Escobedo y Pérez, 1998). La iluminación debe estar entre 40 y 60% (Méndez, et al. 1990).



Ilustración 2 Colocación del pie de cría en una penca de nopal

#### 4.1.3 Hospedero de la cochinilla:

*D. coccus* se desarrolla como parásito en algunas especies de plantas de la familia *cactaceae* conocidas como nopales, los cuales son endémicos de América y con mayor presencia en México y Mesoamérica. Los principales géneros parasitados son *Opuntia* y *Nopalea*, que contienen 114 especies de las cuales 8 reportan la presencia de grana fina (Rodríguez y Portillo, 1989).



Ilustración 3 Penca de *Opuntia* infestada con *D. coccus* ubicada en San Pedro Pinula, Jalapa.

Cuadro 2 Especies hospederas de *Dactylopius coccus*:

1	<b><i>Opuntia atropes</i> Rose.</b>
2	<b><i>O. ficus-indica</i> (L.) Mill.</b>
3	<b><i>O. jaliscana</i> Bravo.</b>
4	<b><i>O. megacantha</i> Salm-Dyck.</b>
5	<b><i>O. pilifera</i> Weber.</b>
6	<b><i>O. streptacantha</i> Lem.</b>
7	<b><i>O. tomentosa</i> Salm-Dick</b>
8	<b><i>Nopalea cochenillifera</i> (L.) Salm-Dyck</b>

Aunque *D. coccus* crece en otras especies, el cultivo de la cochinilla se realiza principalmente sobre *Opuntia ficus-Indica* (L.) Mill., pues es sobre esta especie que se logran los mejores rendimientos de pigmentos, especialmente de ácido carmínico (Portillo y Arreola, 1994).

#### 4.1.4 Usos frecuentes de la cochinilla:

De la cochinilla se pueden obtener una diversidad de productos, según sean los procesos al que sea sometido. La utilización más simple son los cuerpos disecados de los insectos, conocido como grana, y que se produce un líquido rojizo empleado en la tinción de textiles. Luego se pueden encontrar extractos, de los cuales los más demandados son el extracto alcohólico, el ácido carmínico y las aluminas. Los dos primeros utilizados en alimentos y la industria farmacéutica, tanto como su inocuidad como por su estabilidad ante variaciones fuertes de pH.

En la industria de alimentos se utilizan otros pigmentos naturales además del ácido carmínico, que podrían constituirse en competencia del carmín. Entre estos podemos mencionar principalmente la bixina, un extracto de *Bixa orellana*, así como la páprika obtenida de los pimentones (*Capsicum annum*). La ventaja del carmín ante estos está en sus características químicas, su costo y la gama de colores que se pueden obtener de él, que va desde el rojo carmín hasta un púrpura azulado (Ver cuadro 3) dependiendo del Ion metálico con el que se le haga reaccionar.

Cuadro 3 Distintos colores que se pueden obtener del ácido carmínico.

<b>Ion metálico</b>	<b>Color obtenido</b>
<b>Aluminio</b>	<b>Rojo-violáceo</b>
<b>Aluminio-calcio</b>	<b>Rojo escarlata</b>
<b>Aluminio-magnesio</b>	<b>Rojo-rosa</b>
<b>Aluminio-calcio-estaño</b>	<b>Rojo intenso</b>
<b>Aluminio-mercurio</b>	<b>Rojo escarlata</b>
<b>Bario</b>	<b>Violeta</b>
<b>Berilio</b>	<b>Rosa fluorescente</b>
<b>Calcio</b>	<b>Negro</b>
<b>Circonio</b>	<b>Púrpura</b>
<b>Cobre</b>	<b>Café Violeta</b>
<b>Cromo</b>	<b>Púrpura</b>
<b>Estaño (estannoso)</b>	<b>Rojo</b>
<b>Estaño (estánnico)</b>	<b>Violeta</b>
<b>Estroncio</b>	<b>Rojo</b>
<b>Galio</b>	<b>Rojo cereza</b>
<b>Hierro (ferroso)</b>	<b>Violeta</b>
<b>Hierro (férrico)</b>	<b>Café-negro</b>
<b>Indio</b>	<b>Púrpura</b>
<b>Magnesio</b>	<b>Negro-violeta</b>
<b>Mercurio</b>	<b>Rojo escarlata</b>
<b>Potasio</b>	<b>Rojo</b>
<b>Plata</b>	<b>Anaranjado</b>
<b>Plomo</b>	<b>Púrpura</b>
<b>Sodio</b>	<b>Violeta</b>
<b>Torio</b>	<b>Púrpura</b>
<b>Uranio</b>	<b>Verde esmeralda</b>

#### 4.1.5 Importancia económica de los derivados de cochinilla:

Los derivados de la cochinilla han tomado últimamente importancia debido a que se ha encontrado que los tintes artificiales que se utilizaban para colorear alimentos, medicinas y cosméticos son dañinos para la salud humana (Walford, 1984; Kornbrust y Bafknocht, 1985), siendo prohibido su uso en las tres industrias antes mencionadas. Por esa razón en los últimos 25 años ha ocasionado un incremento en el consumo de tintes orgánicos, ya que los compuestos inorgánicos (tintes artificiales) poseen agentes cancerígenos que son perjudiciales a la salud humana, por lo que se han ido disminuyendo en su uso (Walford, 1984).

El colorante obtenido de la cochinilla se puede usar en licores, aguas gaseosas, alimentos, yogures, refrescos de frutas, cremas pasteleras, lácteos, sopas en polvo, conservas, pastas dentífricas, chicles, salsas, bombones, confites, telas, enjuagues bucales, colorear tabletas y grageas, esmaltes de uñas, polvos de cara, lociones, jabones, cremas faciales, lápices labiales, polvos faciales, lápices de ojos, colorear embutidos entre muchos otros usos que se le puede dar.

#### 4.1.6 Mercado de los derivados de cochinilla:

El mercado mundial es liderado por Perú con una participación del 73% del total de producción de cochinilla, unas 650Ton/año, le sigue muy por debajo las Islas Canarias con una participación del 10%, es decir unas 89 Ton/año, también se encuentra Chile, Ecuador y Bolivia estos tres con una participación del 16% unas 142 Ton/año y por ultimo México con una participación de 1%, que equivale a unas 9Ton/año (Programa nacional de grana-cochinilla, 1999).

Estos países en su mayoría exportan la cochinilla seca. De toda la producción que generó Perú en el 2001 el 91% se exportó como cochinilla seca y el 9% como derivados de esta. Y los principales importadores para el 2000 fueron España, Alemania, Francia, Japón y Suiza (Anchundia Et al, 2002) en su mayoría países desarrollados que se encargan de industrializar colorantes como el ácido carmínico, carmín y soluciones colorantes.

En los últimos años Perú ha visto en reducción de su participación en la venta de carmín mundialmente, en 1991 Perú aportaba el 95% de la producción de cochinilla y para 1999 cayó a 73%, pero no de su producción ya que en 1995 exporto 400Ton, (Programa nacional de grana-cochinilla, 1999) mientras que en el 2000 exporto 720Ton ya que hay un incremento en el uso de colorantes naturales (Pérez y Becerra, 2001), Otros países que han estado incrementando su participación en las exportaciones de carmín son: Chile, Bolivia, Ecuador, México y posiblemente Sudáfrica.

Los principales países importadores de cochinilla y sus derivados son: Francia, Italia, Japón, Estados Unidos, Argentina, Alemania, Suiza, Corea, Brasil, Inglaterra, Bélgica, Irlanda, Costa Rica, aunque los últimos cinco países en muy pequeña cantidad su consumo (Anchundia Et al, 2002).

#### 4.1.7 Ácido carmínico:

El ácido carmínico es un ácido *orto-fenoxi-carboxílico* de carácter hidrofílico. Este presenta una coloración roja la cual puede variar hasta púrpura cuando el pH aumenta (Salaverry-García, 1998).

El ácido carmínico es de fórmula  $C_{22}H_{20}O_{13}$ , se cristaliza en prismas rojos, no tiene punto de fusión y se descompone a  $120^{\circ}C$ . El grupo carboxílico  $-COOH$  y los cuatro grupos  $-OH$  fenólicos, de las posiciones C-3, C-5, C-6 y C-8 desprotonables, contribuyen a los cambios de color y pH del ácido carmínico; anaranjado a  $pH = 3.0$ , rojo a  $pH = 5.5$  y púrpura a  $pH = 7.0$ .

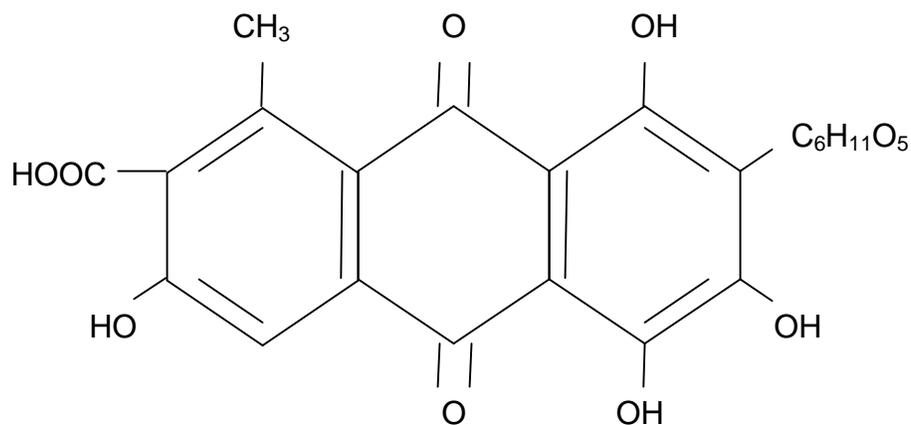


Figura 1 Estructura química del ácido carmínico (Bhatta y Venkataraman, 1965).

#### 4.1.8 Estándares de calidad de ácido carmínico:

Los estándares de calidad son regidos por la FDA de Estados Unidos, para ácido carmínico el porcentaje de ácido carmínico debe encontrarse entre 20 y 22% un

pH entre 8.5 – 7.0 (tomado a 25°C y concentración 1:1,000, el porcentaje de proteína presente debe ser menor a 2.2% y la presencia de arsénico y de plomo debe encontrarse ausente (FDA, 2007).

#### 4.1.9 Extractos de cochinilla:

Los extractos de cochinilla son colorantes naturales de color rojo, que contienen principalmente ácido carmínico; y se obtienen por extracción con agua o alcohol. Estos extractos se utilizan para la preparación de concentrados líquidos o en polvo.

Los productos derivados de la cochinilla pueden obtenerse como extractos acuosos (con extracciones de ácido carmínico de hasta 50% dependiendo de las condiciones ambientales de la cochinilla), extracto alcohólico colorante de cochinilla (con extracciones de ácido carmínico de hasta 50% dependiendo de las condiciones ambientales de la cochinilla), soluciones de carmín (se pueden extraer hasta 5% de ácido carmínico) este último se pueden utilizar para las metodologías alemana, japonesa, americana o la inglesa, estas metodologías son usadas para colorear alimentos con ácidos de frutas debido a que son estables para este tipo de tintes (BUSTAMENTE, 1985)

#### 4.1.10 Métodos para la obtención de extracto alcohólico:

El extracto colorante de cochinilla se puede utilizar para colorear alimentos, yogures, bebidas, y otros, algunos métodos descritos son: I. Extracto colorante con carbonato de potasio y II. Extracto colorante con carbonato de sodio.

##### 4.1.10.1 Extracto colorante con carbonato de potasio:

Equipo y reactivos:

-  15.62 mL de agua desmineralizada
-  0.17 g de carbonato de potasio
-  3.12 g de cochinilla molida
-  9.37 mL de alcohol etílico

✚ 31.25 g de Jarabe (14.37 g de azúcar y 16.88 g de agua)

A 15.62 mL de agua se le añade el carbonato de potasio, alcohol y cochinilla. Se calienta a ebullición por 7 minutos, se deja reposar, se decanta el líquido y se filtra. A este extracto se le agrega el jarabe y se mezcla.

#### 4.1.10.2 Extracto colorante con carbonato de sodio:

Equipo y reactivos:

✚ 125 mL de agua desmineralizada

✚ 0.125 g de carbonato de sodio

✚ 125 mL de alcohol etílico a 80°

✚ 3.12 g de cochinilla

A la solución acuosa de carbonato de sodio, se le añade la cochinilla; se calienta a ebullición por 15 minutos, dejar en reposo, decantar el líquido y filtrar.

A la solución se agrega alcohol etílico, se deja en reposo por una semana, se decanta el líquido y se filtra.

#### 4.1.11 Métodos de extracción de ácido carmínico en cristales:

Los métodos para extracción de ácido carmínico se basan en su concentración y cristalización a partir de un complejo metálico precipitado de una extracción acuosa de la cochinilla. Algunos métodos descritos son: I. Método Japonés, II. Método Alemán (Nony y Bouman, 1983).

##### 4.1.11.1 Método Japonés:

Equipo y reactivos:

✚ 93.75 mL de agua desmineralizada

✚ 0.06 g de ácido tartárico.

✚ 0.2 g de gelatina

- ✚ 3.12 g de cochinilla molida
- ✚ Tamiz de malla No. 20

En una autoclave se calientan a 150°C y 16 lb. De presión durante 10 minutos, 93.75 mL de agua desmineralizada, 0.06 g de ácido tartárico, 0.2 g de gelatina, 3.12 g de cochinilla molida y tamizada con malla No. 20 y a 8% de humedad. Se deja reposar, se filtra y luego la solución obtenida se destila hasta obtener un extracto concentrado con un alto porcentaje de ácido carmínico.

#### 4.1.11.2 Método Alemán:

Equipo y reactivos:

- ✚ 93.75 mL de agua desmineralizada
- ✚ 3.12 g de cochinilla molida
- ✚ solución de laqueado (343.75 mL de de agua, 1 g de sulfato doble de aluminio y potasio).
- ✚ Molino de martillos

Se agrega los 3.12 g de cochinilla a los 93.75 mL de agua desmineralizada, se pone a ebullición por 8 minutos, se deja reposar, y luego se realiza la decantación del líquido y se filtra en caliente. Se adiciona la solución de laqueado, se calienta a ebullición por 8 minutos y se deja reposar por 24 horas para la sedimentación de la laca, se decanta del líquido y se filtra la laca sedimentada. Se obtiene una laca color violeta.

#### 4.1.12 Extracción de carmín o laca de cochinilla

Los procedimientos para la preparación de carmín de cochinilla, tiene la siguiente secuencia: Selección de la cochinilla, pulido, molienda y análisis químico del contenido de ácido carmínico.

#### 4.1.12.1 Método de Carré:

Equipo y reactivos:

- ✚ 93.75 mL de agua desmineralizada
- ✚ 1.5 g de carbonato de sodio
- ✚ 1.75 g de ácido cítrico
- ✚ 3.12 g de cochinilla molida
- ✚ Solución de laqueado (343.75 mL de agua desmineralizada y 2 g de sulfato doble de aluminio y potasio).
- ✚ Molino de martillo

Se pone a ebullición los 93.75 mL de agua desmineralizada, 1.5 g de carbonato de sodio, 1.75 g de ácido cítrico, 3.12 g de cochinilla molida por 8 minutos; se deja reposar, se realiza una decantación del líquido y filtración en caliente, se agrega la solución de laqueado y se calienta a ebullición por 8 minutos se deja reposar la sedimentación de la laca, se decanta el líquido y se filtra, se obtiene una laca color rojo intenso.

#### 4.1.12.2 Método Inglés:

Equipo y reactivos:

- ✚ 93.75 mL de agua desmineralizada
- ✚ 0.25 g de carbonato de sodio
- ✚ 3.12 g de cochinilla molida
- ✚ solución de laqueado (343.75 mL de agua y 0.62 g de sulfato doble de aluminio y potasio)
- ✚ Gelatina

Se calienta a ebullición los 93.75 mL de agua desmineralizada, con los 0.25 g de carbonato de sodio y los 3.12 g de cochinilla molida por 8 minutos, se deja reposar, y se realiza la decantación del líquido y la filtración, luego se agrega la solución de laqueado se calienta a ebullición por 8 minutos y se agrega la gelatina,

se deja reposar por 24 horas para sedimentación de la laca, se decanta el líquido y se filtra, se obtiene una laca color violeta.

#### 4.1.13 Espectroscopia electrónica UV-VIS

Los espectros UV fueron registrados en un espectrómetro Perkin-Elmer Lambda 11, en celdas de cuarzo de 10 mm de paso óptico.

Se utilizó una muestra patrón para medir la concentración al 22% de ácido carmínico, luego se realizó la medición con las muestras con un autocero entre cada medición (agua destilada) estas mediciones se realizaron en ppm para luego pasarla a porcentaje y así poder determinar el porcentaje de ácido carmínico contenido en las muestras. Las mediciones se realizaron a 494 nm de longitud de onda debido a que el rango para poder hacer lecturas para color rojo. El espectrómetro es automático y posee las siguientes especificaciones:



Ilustración 4 Espectrómetro Perkin-Elmer Lambda 11 y celdas de cuarzo de 10 mm.

#### 4.1.14 Análisis espectrofotométrico:

La espectrofotometría es el conjunto de procedimientos que utilizan la luz para medir concentraciones químicas (Juergens, 1988).

En análisis espectrofotométrico normalmente se escoge la longitud de onda de máxima absorbancia por dos razones (1) La curva es relativamente aplanada alrededor del máximo, de manera que apenas varía la absorbancia se deriva un poco el monocromador, o si varía algo la anchura de banda escogida. La ley de

Beer se cumple mejor cuando la absorbancia es casi constante a lo largo de la banda escogida de longitudes de onda. (2) La sensibilidad del análisis es máxima en el máximo de absorbancia, es decir, se consigue la máxima respuesta para una concentración (Harris, 1978).

La parte de una molécula responsable de la absorción de la luz se llama cromóforo. Toda sustancia que absorbe luz visible aparece coloreada cuando transmite o refleja la luz. La sustancia absorbe ciertas longitudes de onda de la luz blanca, y nuestros ojos detectan las longitudes de onda que no se absorben. El color observado se llama el complementario del color absorbido (Alman y Billmeyer, 1976).

Cuadro 4 Colores de luz visible

<b>Longitud de onda de máxima absorbancia (nm)</b>	<b>Color Absorbido</b>	<b>Color observado.</b>
380 – 420	Violeta	Amarillo Verdoso
420 – 440	Azul Violáceo	Amarillo
440 – 470	Azul	Naranja
470 – 500	Verde Azulado	Rojo
500 – 520	Verde	Púrpura
520 – 550	Verde Amarillento	Violeta
550 – 580	Amarillo	Azul Violáceo
580 – 620	Naranja	Azul
620 – 680	Rojo	Verde Azulado
680 - 780	Púrpura	Verde

#### 4.1.15 Curva de trabajo:

Se utilizó la curva de trabajo para determinar el porcentaje de ácido carmínico en las muestras, este consiste en colocar una muestra patrón en el espectrofotómetro a 494nm (como observamos en la tabla 4, la longitud de onda máxima de absorbancia para color rojo es 500nm por eso se escogió esta longitud de onda) a tres distintas concentraciones (1:2,000, 1:1,000 y 1:500) para poder establecer el comportamiento de la misma.

#### 4.1.16 Ley de Beer – Lambert

En óptica la ley de Beer Lambert, también conocida como ley de Beer o ley de Beer Lambert Bouguer es una relación empírica que relaciona la absorción de luz con las propiedades del material atravesado (Wentworth, 1966).

La absorbancia es importante porque es directamente proporcional a la concentración ( $c$ ), de la especie que absorbe la luz en la muestra (Ricci, Ditzler y Nestor, 1994.)

## 4.2 MARCO REFERENCIAL:

### 4.2.1 Ubicación de la investigación:

Las extracciones de ácido carmínico se realizaron en el laboratorio de cultivo de tejidos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos, situada en el laboratorio C-18 del edificio T-8 y las lecturas con espectrofotómetro en el laboratorio de Suelos, situada en el laboratorio B-15 del Edificio T-8 en la Ciudad Universitaria, zona 12.

Las condiciones de laboratorio son controladas con una temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  y una humedad relativa entre 70% - 80%.

El laboratorio cuenta con el siguiente equipo de trabajo:

-  Reactivos.
-  Equipo de cristalería (Envases, Erlen meyer, Beacker, etc.)
-  Estufa eléctrica
-  Potenciómetro
-  Tamices
-  Pipetas
-  Buretas
-  Papel filtro

- ✚ Probetas
- ✚ Embudos
- ✚ Balanza analítica
- ✚ Espectrofotómetro
- ✚ Espátulas
- ✚ pinzas de Stocks
- ✚ Soporte universal
- ✚ Papel Mayordomo

#### 4.2.2 Origen de la cochinilla

Se obtuvieron 400 g de cochinilla seca procedente del municipio de San Luís Jilotepéque, Departamento de Jalapa. El proceso de post cosecha se realizará por secado a la sombra, ya que éste es el método que utilizan los productores del área.

#### 4.2.3 Muestra patrón.

Se obtuvo una muestra patrón del proveedor Merck® conforme las regulaciones internacionales del FDA y CEE comisión europea posee las siguientes características (Véase anexo 3):

- Artículo número: 100211
- Nombre del artículo: ácido carmínico
- Peso Molecular:  $492.4 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .
- Fórmula molecular:  $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_{13}$ .
- Almacenamiento: ambientes seco entre  $5^{\circ}\text{C}$  y  $30^{\circ}\text{C}$ .
- Estado Físico: Líquido.
- Color: Rojo Oscuro.
- Olor: Afrutado.
- Punto de Fusión:  $136^{\circ}\text{C}$
- Solubilidad en agua:  $30 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$
- Porcentaje de ácido carmínico: 22%

## 5 OBJETIVOS:

### 5.1 Objetivo general:

- ✚ Evaluar seis métodos de extracción de ácido carmínico obtenido de la cochinilla (*Dactilopius coccus* Costa) según condiciones de los laboratorios de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos para su posterior transferencia a productores de cochinilla.

### 5.2 Objetivos específicos:

- ✚ Evaluar si los métodos de extracción cumplen con los estándares de calidad para los extractos de ácido carmínico.
- ✚ Establecer cuales métodos se pueden realizar para procesar los derivados de cochinilla en la FAUSAC.
- ✚ Establecer cuál de todos los métodos de procesamiento de derivados de cochinilla es más rentable y factible realizar.

## 6 HIPÓTESIS:

El método de extracción alcohólica con carbonato de potasio es la que presenta mejores rendimientos de porcentaje de ácido carmínico extraído de cochinilla (*Dactilopius coccus* Costa) en condiciones de laboratorio de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

## 7 METODOLOGÍA:

### 7.1 Métodos de extracción:

Se determinó la eficiencia de cada uno de los métodos de extracción en función del contenido de ácido carmínico y la recuperación final del mismo. Los métodos ya descritos son para extracción alcohólica: extracto colorante de carbonato de potasio, extracto colorante de carbonato de sodio; para la extracción de carmín: método Inglés, método Carré; y para la extracción de ácido carmínico en cristales se usaran: el método japonés, método alemán. Estos a su vez constituyeron los tratamientos a evaluar.

La cochinilla colectada se secó, se separaron en 30 lotes de 3.12 g y se determinó el contenido o porcentaje de ácido carmínico mediante la metodología ya descrita. Luego se extrajo el ácido carmínico siguiendo cada uno de los métodos anteriores hasta obtener cristales, solución alcohólica y el carmín (laca colorante). A estos productos se le determinó la pureza mediante el uso del espectrofotómetro.

### 7.2 Metodología estadística:

Para validar y adaptar la tecnología de extracción de ácido carmínico según condiciones de la FAUSAC, para esto se utilizaron dos laboratorios el laboratorio de cultivo de tejidos para realizar las extracciones de ácido carmínico y las instalaciones del laboratorio de suelos para realizar el análisis espectrofotométrico, se evaluaron seis métodos de extracción de ácido carmínico.

1. Extracción alcohólica: esta extracción se hace por medio de alcohol etílico, su presentación es líquida, constó de dos tratamientos que son: extracción alcohólica con carbonato de potasio y extracción alcohólica con carbonato de sodio.
2. Extracción de ácido carmínico en cristales: esta constó de dos tratamientos que son: método japonés y el método alemán.
3. Carmín o Laca concentrada: este constó de dos tratamientos que son: método inglés y el método de Carré.

Cuadro 5 Tratamientos a evaluar (métodos de extracción de ácido carmínico)

TRATAMIENTO	METODO DE EXTRACCION
T1	Extracto colorante de carbonato de potasio
T2	Extracto colorante de carbonato de sodio
T3	Método japonés
T4	Método alemán
T7	Método inglés
T8	Método de Carré

### 7.3 Unidad experimental:

La unidad experimental será 3.12 g de cochinilla seca molida, al cual se someterá a los distintos tratamientos.

### 7.4 Tratamientos:

Los tratamientos fueron conformados por cada método de extracción, ordenados de la siguiente manera:

Cuadro 6 Orden de tratamientos y repeticiones de la primera fase

FASE	TRATAMIENTO	REPETICIONES
Extracción alcohólica de ácido carmínico	T1. Extracción alcohólica con carbonato de potasio	R1
		R2
		R3
		R4
		R5
	T2. Extracción alcohólica con carbonato de sodio	R1
		R2
		R3
		R4
		R5
Extracción de ácido carmínico en cristales	T3. Método Japonés	R1
		R2
		R3
		R4
		R5
	T4. Método Alemán	R1
		R2
		R3
		R4
		R5
Extracción de ácido carmínico en carmín (laca concentrada)	T5. Método Ingles	R1
		R2
		R3
		R4
		R5
	T8.Método de Carré	R1
		R2
		R3
		R4
		R5

### 7.5 Repeticiones:

Se realizarán 5 repeticiones por tratamiento, por tanto se tendrán 30 unidades experimentales.

### 7.6 Variables de estudio:

Las variables a medidas serán:

- ✚ Estándares mínimos de calidad
  - pH: La concentración de iones hidrógeno se midió con un potenciómetro (se acepta un rango de 5-5.5 a 25°C)
  - % de ácido carmínico: el porcentaje se midió con espectrofotómetro (no debe ser menor de 2%)
  - % de proteínas: se midió el porcentaje de proteínas en las muestras. (no debe ser mayor de 2.2%)
- ✚ Disponibilidad de implementos de laboratorio: Se enumeraron la disponibilidad de los materiales mínimos que se necesitaron para la extracción.
- ✚ Costos fijos: Se tomaron todos los costos fijos en Quetzales.
- ✚ Costos de operación (Consumibles, servicios básicos) o costos variables: Se tomaron todos de los costos variables en Quetzales
- ✚ Rendimiento: se midió la cantidad de ácido carmínico obtenido en mL.
- ✚ Producción total: Se sumaron las cantidades de ácido carmínico obtenido con la extracción en mL.
- ✚ Rentabilidad: Se midió con la diferencia entre los ingresos estimados menos la suma de los costos fijos y variables, dividida entre la suma de costos fijos y variables por cien, dando la cantidad de quetzales que se ganan por cada Q100.00 invertidos.

$$Rentabilidad = \left\{ \frac{((Ingresos - (Costos fijos + costos variables)))}{costos fijos + costos variables} \right\} \times 100$$

## 7.7 Análisis estadístico:

### 7.7.1 Modelo Estadístico:

El modelo que se utiliza para el análisis de la información fue el de completamente al azar, El modelo se describe a continuación:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

$Y_{ij}$  = Variable de respuesta de la  $ij$ -ésima unidad experimental (3.12 gr de cochinilla molida).

$\mu$  = Media general de la variable de respuesta.

$\tau_i$  = Efecto del  $i$ -ésimo tratamiento en la variable dependiente.

$\varepsilon$  = Error experimental asociado a la  $ij$ -ésima unidad experimental.

### 7.7.2 Análisis de la información:

Se realizó un análisis completamente al azar. Sometiéndose las variables a un análisis de ANDEVA. Y las medias a una prueba de Tukey con el software estadístico de INFOSTAT.

## 8 RESULTADOS

### 8.1 Curva de trabajo

Se sometió la muestra patrón a un espectrofotómetro en concentraciones distintas para poder conocer el comportamiento de la muestra.

Cuadro 7 Datos de las distintas diluciones realizadas para obtener curva de trabajo

Concentración	Ppm
1:2,000	0.346
1:1,000	0.798
1:500	1.165

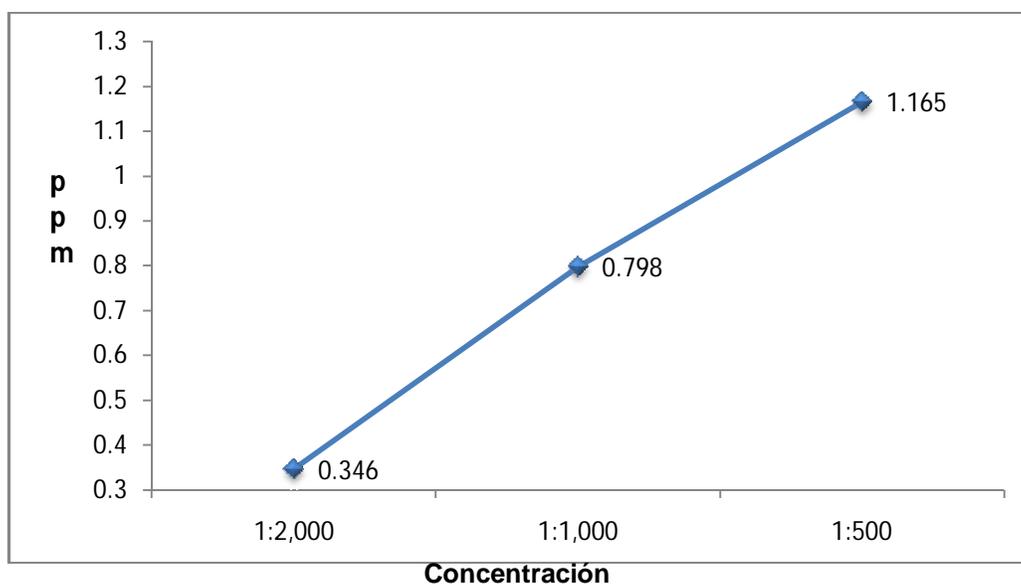


Gráfico 1 Curva de trabajo de la muestra patrón.

### 8.2 Resultados de concentración de ácido carmínico:

Los resultados obtenidos de la concentración de ácido carmínico se resume en el siguiente cuadro:

Cuadro 8 Concentración de ácido carmínico en cada método de extracción (%).

[ ]	Carbonato de Potasio	Carbonato de Sodio	Método Japonés	Método Alemán	Método de Carré	Método Inglés	patrón
R1	20.00	14.17	3.87	4.52	5.22	5.98	22
R2	20.83	16.38	3.83	4.23	5.20	3.35	22
R3	19.97	15.33	3.87	4.72	3.98	3.48	22
R4	21.00	15.20	3.97	4.52	4.28	5.37	22
R5	20.85	17.48	4.20	3.77	4.17	3.67	22

### 8.2.1 Análisis de varianza concentración de ácido carmínico.

Para realizar el análisis de varianza se utilizó el programa estadístico INFOSTAT® en el Centro de Telemática con licencia original.

Los resultados obtenidos son los siguientes

Cuadro 9 Análisis de la varianza de la concentración de ácido carmínico.

Variable	N	CV.
Columna2	30	8,97

Cuadro 10 Cuadro de análisis de la varianza de la concentración de ácido carmínico.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1330,68	5	266,14	416,72	<0,0001
Columna1	1330,68	5	266,14	416,72	<0,0001
Error	15,33	24	0,64		
Total	1346,01	29			

Al umbral de significación Alfa=0.050 se puede rechazar la hipótesis nula de igualdad de las medias. Dicho de otro modo, la diferencia entre las medias es significativa.

### 8.2.2 Comparación de medias de concentración de ácido carmínico utilizando la metodología de Tukey.

Cuadro 11 Comparación de medias de Tukey

Error: 0,7172 gl: 20

Columna1	Medias (%)	n	
metjap	3,95	5	A
metale	4,35	5	A
meting	4,37	5	A
metcar	4,57	5	A
carsod	15,71	5	B
carpot	20,53	5	C

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

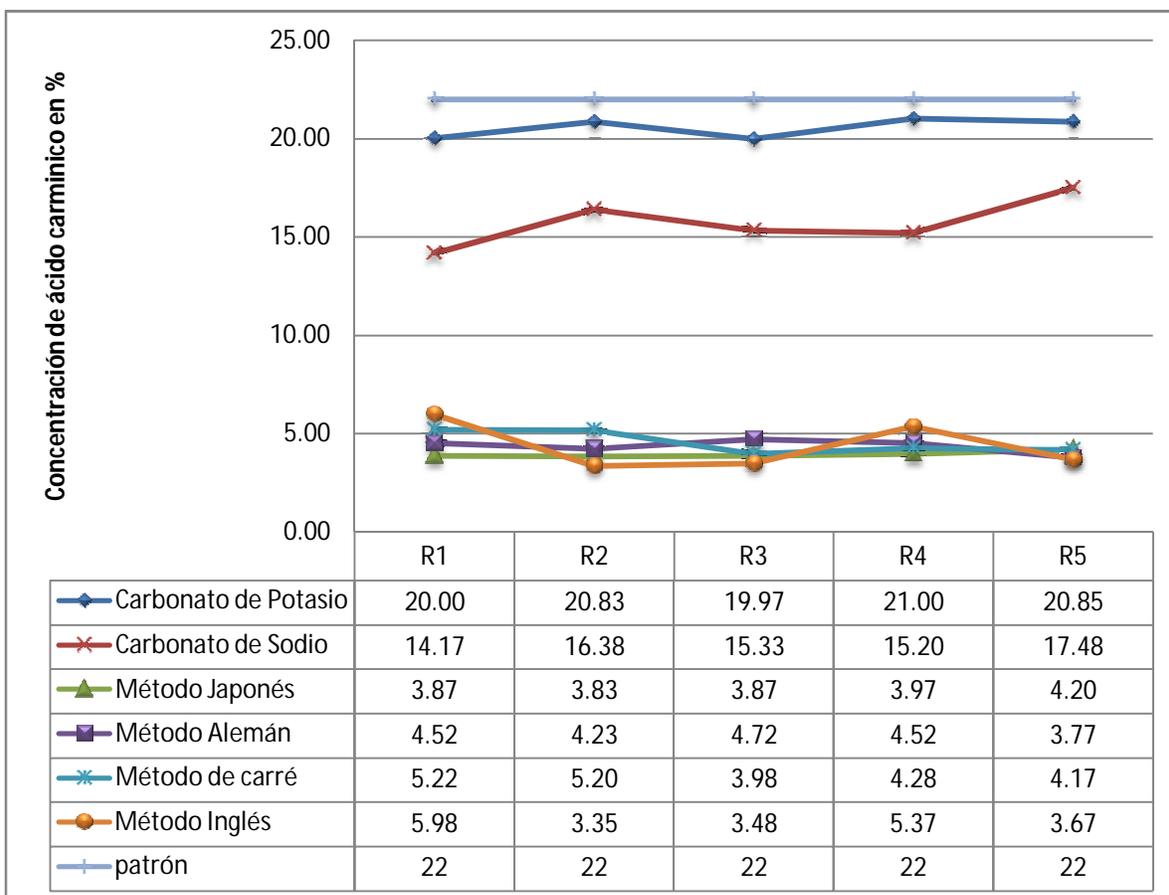


Gráfico 2 Comparación de concentración de ácido carmínico de todos los métodos

### 8.3 pH medido en las muestras.

Los resultados obtenidos del pH de las muestras de ácido carmínico se resume en el siguiente cuadro:

Cuadro 12 pH de las muestras de cada método de extracción.

[ ]	Carbonato de Potasio	Carbonato de Sodio	Método Japonés	Método Alemán	Método de Carré	Método Inglés	patrón
R1	7.9	6.2	5.6	5.9	5.8	5.7	8.5
R2	7.5	6.1	5.6	5.9	5.8	5.7	8.5
R3	7.1	6.0	5.6	5.8	5.9	5.6	8.5
R4	7.9	6.2	5.6	5.9	5.8	5.7	8.5
R5	7.5	6.2	5.6	5.9	5.8	5.7	8.5

### 8.3.1 Análisis de varianza:

Los resultados obtenidos son los siguientes.

Cuadro 13 Análisis de la varianza de pH de las muestras

Variable	N	CV
Columna2	30	2,37

Cuadro 14 Cuadro de análisis de la varianza de pH de las muestras

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	13,72	5	2,74	130,64	<0,0001
Columna1	13,72	5	2,74	130,64	<0,0001
Error	0,50	24	0,02		
Total	14,22	29			

Al umbral de significación Alfa=0.050 no se puede rechazar la hipótesis nula de igualdad de las medias. Dicho de otro modo, la diferencia entre las medias no es significativa.

### 8.3.2 Comparación de medias del pH medido a las muestras de ácido carmínico utilizando la metodología de Tukey.

Cuadro 15 Comparación de medias de Tukey del pH de las muestras

Error: 0,0210 gl: 24

Columna1	Medias (pH)	n			
metjap	5,60	5	A		
meting	5,68	5	A		
metcar	5,82	5	A		
metale	5,88	5	A	B	
carsod	6,14	5		B	
carpot	7,58	5			C

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

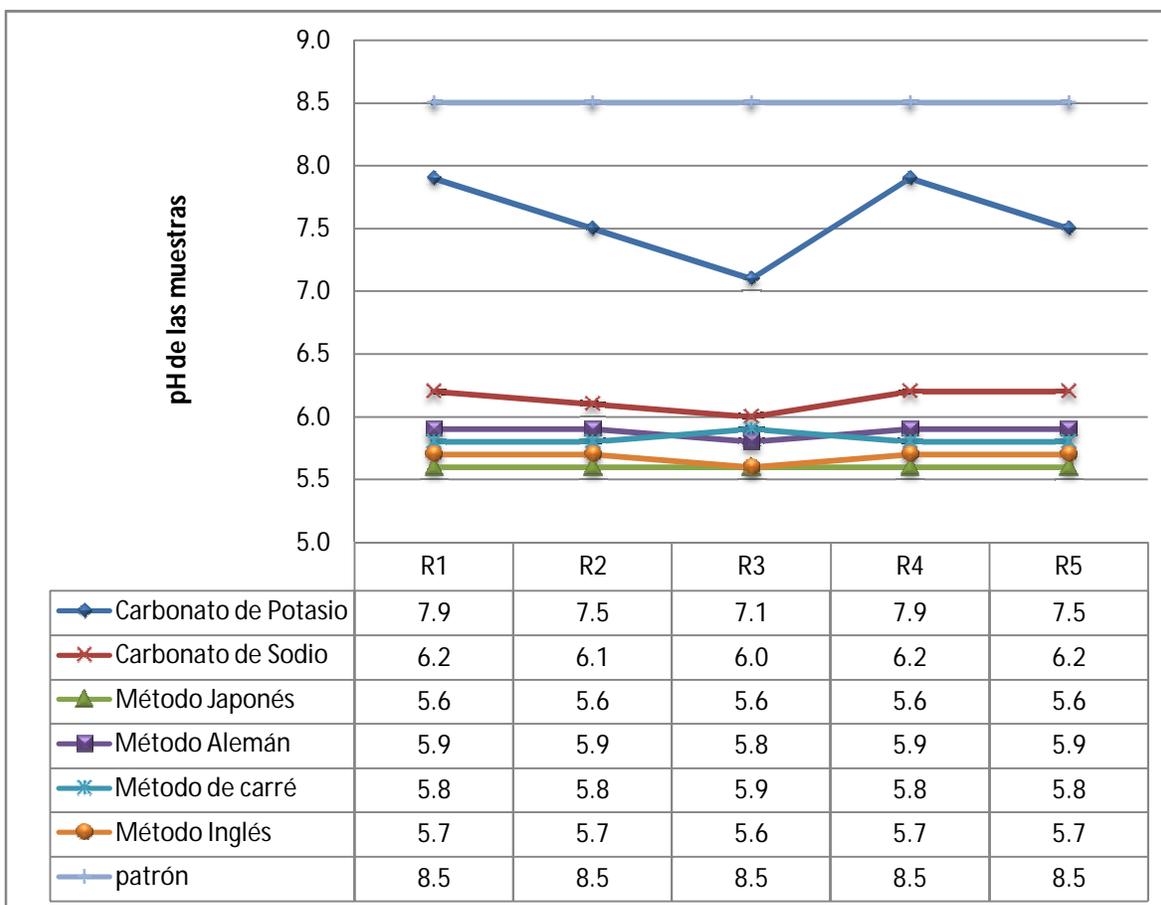


Gráfico 3 Comparación de pH de todos los métodos de extracción de ácido carmínico.

## 8.4 Porcentaje de proteínas contenidas en las muestras.

### 8.4.1 Análisis de varianza

Los resultados obtenidos son los siguientes:

Cuadro 16 Análisis de la varianza de porcentaje de proteína

Variable	N	CV
Columna2	30	8,44

Cuadro 17 Cuadro de análisis de la varianza de porcentaje de proteína

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	113,84	5	22,77	122,31	<0,0001
Columna1	113,84	5	22,77	122,31	<0,0001
Error	4,47	24	0,19		
Total	118,31	29			

Al umbral de significación Alfa=0.050 no se puede rechazar la hipótesis nula de igualdad de las medias. Dicho de otro modo, la diferencia entre las medias no es significativa.

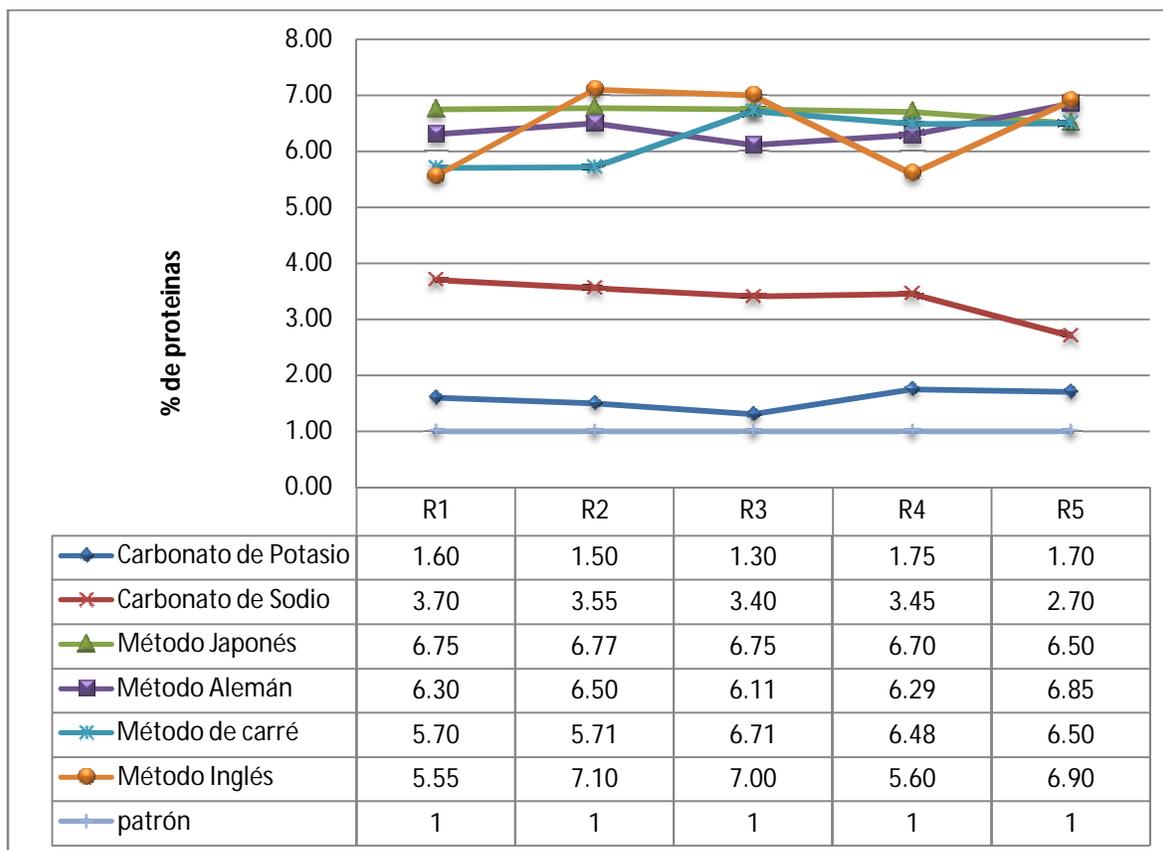
#### 8.4.2 Comparación de medias del porcentaje de proteínas de los métodos de extracción de ácido carmínico utilizando la metodología de Tukey.

Cuadro 18 Comparación de medias Tukey de porcentaje de proteína

Error: 0,1861 gl: 24

Columna1	Medias (%)	n	
carpot	1,57	5	A
carsod	3,36	5	B
metcar	6,22	5	C
metale	6,41	5	C
meting	6,43	5	C
metjap	6,69	5	C

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )



Cuadro 19 Comparación de porcentaje de proteínas de todos los métodos.

Cuadro 20 Comprobación de estándares de calidad por método de extracción.

	% ácido carmínico	aprobado/reprobado	pH*	aprobado/reprobado	% de proteína	aprobado/reprobado	Ausencia arsénico y de plomo	aprobado/reprobado
Patrón	20 - 22	✓	8.5 - 7.0	✓	Menores a 2.2	✓	ausente	✓
Carbonato de Potasio	20.53	✓	7.58	✓	1.57	✓	No se midió	✓
Carbonato de Sodio	15.71	✗	6.14	✗	3.36	✗	No se midió	✓
Método Japonés	3.95	✗	5.6	✗	6.69	✗	No se midió	✓
Método Alemán	4.35	✗	5.88	✗	6.41	✗	No se midió	✓
Método de Carré	4.57	✗	5.82	✗	6.22	✗	No se midió	✓
Método Inglés	4.37	✗	5.68	✗	6.43	✗	No se midió	✓

\*pH tomado a 25°C y [] 1:100 (dilución 1mL en 100mL)

### 8.5 Rendimiento y producción total:

Cuadro 21 Cantidad extraída de ácido carmínico por metodología en mL.

Método	R1 (mL)	R2 (mL)	R3 (mL)	R4 (mL)	R5 (mL)	PROMEDIO (mL)	TOTAL (mL)
Carbonato de Potasio	50	40	45	38	40	43	300
Carbonato de Sodio	60	50	43	42	40	47	213
Método Japonés	38	35	36	33	40	36	235
Método Alemán	36	36	34	38	37	36	182
Método de carré	39	43	40	49	44	43	181
Método Inglés	39	41	45	47	47	44	215

### 8.6 Disponibilidad de equipo de laboratorio:

A continuación se enlistan los implementos de laboratorio y reactivos utilizados en las extracciones de ácido carmínico.

Cuadro 22 Equipo de laboratorio y reactivos del mejor método de extracción.

Método de extracción con Carbonato de potasio			
Reactivo o Equipo	Cantidad utilizada	Disponibilidad	Precio
Agua desmineralizada	1 garrafón	Si ✓	Q20.00
Carbonato de potasio	500 gr	Si ✓	Q435.00
Alcohol Etilico	1 galón	Si ✓	Q90.00
Azúcar	1 libra	Si ✓	Q2.00
Estufa Eléctrica	1 unidad	Si ✓	Q100.00
Filtro	1 paquete	Si ✓	Q15.00
papel aluminio	1 unidad	Si ✓	Q6.00
Papel mayordomo	1 unidad	Si ✓	Q10.00
Probeta	1 unidad	Si ✓	Q70.00
Balanza	1 unidad	Si ✓	Q100.00
Beacker 1000 mL	5 unidades	Si ✓	Q483.00
Erlen Meyer	5 unidades	Si ✓	Q182.00
Espátula	1 unidad	Si ✓	Q30.00
Guantes	1 unidad	Si ✓	Q5.00
<b>TOTAL</b>			<b>Q1,548.00</b>

### 8.7 Ingresos:

Los ingresos que pueden obtenerse de la venta de ácido carmínico son los siguientes:

Cuadro 23 Ingresos de la venta de ácido carmínico.

cantidad en mL	mL extraídos	Ingresos
Carbonato de Potasio	300	Q5,700.00
Carbonato de Sodio	213	Q4,047.00
Método Japonés	235	Q3,465.00
Método Alemán	182	Q3,458.00
Método de Carré	181	Q3,439.00
Método Inglés	215	Q4,085.00

El precio de ácido carmínico es de US\$150.00 / 60 mL, precio estimado en quetzales con una tasa de cambio de Q7.60 por US\$1.00

### 8.8 Inversión inicial o costos fijos:

Los costos fijos a los que se incurrieron en el proyecto son:

Cuadro 24 Inversión o costos fijos.

Equipo	Cantidad utilizada	Precio
Estufa Eléctrica	1 unidad	Q100.00
Probeta	1 unidad	Q70.00
Balanza	1 unidad	Q100.00
Beacker 1000 mL	5 unidades	Q483.00
Erlen Meyer 500 mL	5 unidades	Q182.00
Espátula	1 unidad	Q30.00
<b>TOTAL</b>		<b>Q965.00</b>

### 8.9 Costos de operación o costos variables:

Los costos variables a los que se incurrieron en el proyecto son los siguientes:

Cuadro 25 Costos variables o de operación.

Equipo	Cantidad usada	Precio
Filtro	1 paquete	Q15.00
papel aluminio	1 unidad	Q6.00
Papel mayordomo	1 unidad	Q10.00
Guantes	1 unidad	Q5.00
Agua desmineralizada	1 garrafón	Q20.00
Carbonato de potasio	500 gr	Q435.00
Alcohol Etílico	1 galón	Q90.00
Azúcar	1 libra	Q2.00
Pago de Laboratorista	1 unidad	Q2,500.00
<b>TOTAL</b>		<b>Q3,083.00</b>

### 8.10 Rentabilidad:

Se midió con la diferencia entre los ingresos menos la suma total de los costos fijos y variables, divide entre la suma de costos fijos y variables por cien, dando la cantidad en quetzales que se ganan por cada Q100.00 invertidos.

$$\text{Rentabilidad} = \left\{ \frac{(\text{Ingresos} - (\text{Costos fijos} + \text{costos variables}))}{\text{costos fijos} + \text{costos variables}} \right\} \times 100$$
$$\text{Rentabilidad} = \frac{(\text{Q}5,700.00 - (\text{Q}965.00 + \text{Q}3,083.00))}{\text{Q}965.00 + \text{Q}3,083.00} \times 100$$

$$\text{Rentabilidad} = \frac{\text{Q}5,700.00 - \text{Q}4,048.00}{\text{Q}4,048.00} \times 100$$

$$\text{Rentabilidad} = \frac{\text{Q}1,652.00}{\text{Q}4,048.00} \times 100$$

$$\text{Rentabilidad} = \text{Q}40.81$$

## 9 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La curva de trabajo establecida con la muestra patrón podemos observar que tiende a una distribución lineal de datos (Véase grafico 1), esto nos indica que la muestra patrón obtenida es estable ya que no presenta variaciones significativas que nos muestren que exista inconvenientes con la Ley de Beer, la muestra fue diluida a concentraciones menores (1:2,000, 1:1,000 y 1:500) presenta el mismo comportamiento de absorbancia de ácido carmínico esto nos indica que no importa a que concentración diluyamos la muestra, está mantendrá las características que poseía cuando se encontraba a la concentración original. Esto nos confirma que podemos utilizar la muestra patrón como referencia para poder determinar la concentración de ácido carmínico para los métodos a evaluar.

La Ley de Beer se cumple cuando la absorbancia es casi constante a lo largo de la banda de longitud de onda escogida, también podemos encontrar en rangos altos que la sensibilidad de análisis es máxima a una absorbancia mayor, es decir podemos conseguir una máxima respuesta de la muestra para distintas concentraciones.

En base a los resultados obtenidos de la concentración de ácido carmínico se realizó el análisis de varianza con un modelo completamente al azar estos datos se corrieron con el programa estadístico INFOSTAT® el cuadro 9 nos muestra que existe un coeficiente de variación de 8.97, en el cuadro 10 podemos encontrar el análisis de varianza (ANDEVA) en el cual podemos observar que el valor de P es menor de 0.0001 que nos indica que podemos rechazar la hipótesis nula de igualdad de medias, esto nos indica que existe diferencia significativa entre las medias, al ver el análisis de Tukey en el cuadro 11 podemos confirmarlo al ver tres grupos un único grupo conformado de un solo método que es el método de extracción alcohólico con carbonato de potasio está catalogado como el mejor por poseer la mejor media de concentración de ácido carmínico con un 20.53 % obtenido, mientras que el otro grupo es conformado por un solo método también que es el método de extracción alcohólico con carbonato de sodio, este con una

concentración de ácido carmínico de 15.71% mientras que un último grupo conformado por los otros métodos de extracción podemos observar el método de Carré (4.57%), el método inglés (4.37%), el método alemán (4.35%) y el método japonés (3.95%) respectivamente siendo los peores métodos para poder extraer el ácido carmínico. La probabilidad de error es de 0.71%, los grupos fueron separados cuando presentaban diferencias significativas mayores a 0.05 entre medias.

El método alemán, inglés y japonés no reportan extracciones de ácido carmínico mayores del 5 % ya que son utilizados como tintes orgánicos para alimentos, en especial porque es estable para ácidos de frutas, son utilizados para colorear licores y bebidas, así como confites. Mientras que los extractos alcohólicos reportan extracciones mayores de 12% porque el ácido carmínico es precipitado como un complejo metálico de la solución alcohólica. El complejo es separado y dispersado en el alcohol y luego tratado para dejar en libertad el ácido carmínico, es filtrado y concentrado para obtener así el extracto de ácido carmínico. Se ha demostrado que el carbonato de potasio es un elemento que puede extraer de una manera más eficiente el ácido carmínico de los extractos.

Observando los resultados obtenidos del pH el análisis de varianza el Cuadro 13 nos presenta un coeficiente de varianza de 2.37, el ANDEVA del cuadro 14 nos muestra un valor de p menor al 0.00001, esto nos indica que la F calculada es mayor a la F de la tabla, esto nos indica que podemos rechazar la hipótesis nula de igualdad de medias, dicho de otro modo, existe diferencia significativa entre las medias evaluadas. Observando el Cuadro 15 podemos darnos cuenta que existen dos grupos que tienen diferencias significativas entre sí, un grupo conformado por un solo método que es el método de extracción alcohólico con carbonato de potasio, con una media de 7.58 de pH, el otro grupo lo conforman los demás métodos, el método de extracción alcohólico con carbonato de sodio (pH = 6.14), el método alemán (pH = 5.88), el método de Carré (pH = 5.82) el método inglés

(pH = 5.68), y el método japonés (pH = 5.60). Con una probabilidad de error de 0.0210 %.

Los resultados obtenidos de porcentaje de proteínas de los métodos de extracción de ácido carmínico con el análisis de varianza podemos observar el cuadro 16 que nos muestra un coeficiente de variación de 8.44, el cuadro 17 nos muestra el análisis de varianza (ANDEVA), el valor de p es menor a 0.00001, esto nos indica que la F calculada es mayor a la F de la tabla, esto indica que no se puede rechazar la hipótesis nula de igualdad de medias. Es decir existe diferencia entre las medias evaluadas. El cuadro 18 muestra la comparación de medias según la metodología de Tukey, esta nos muestre dos grupos con diferencias significativas como lo son el grupo principal que está conformado por solamente el método de extracción alcohólica con carbonato de potasio con 1.57% de proteínas presentes, y el segundo grupo es conformado por los otros métodos, el método de extracción alcohólica con carbonato de sodio (3.36%), método de Carré (6.22%), método alemán (6.41%), método inglés (6.43%), método japonés (6.69%), con lo que podemos concluir que el método que mejor características de tinte es el del carbonato de potasio porque posee menos porcentaje de proteínas, esto debido a que se sabe que el color y la fuerza del tinte no están directamente relacionados solo con el porcentaje de ácido carmínico, ni el pH también está relacionado con la putrefacción del extracto y la precipitación de proteínas, el alto porcentaje de proteínas provoca inestabilidad en el tinte, generando que el color rojo se degrade al bajar la fuerza del tinte, algunas veces desplazándose gradualmente a color azul. Por eso es importante mantener el extracto con índices menores de 2% de contenido de proteínas.

El equipamiento básico de laboratorio es cumplido en su totalidad en los laboratorios de la Facultad, se enlistó los materiales como podemos ver en el cuadro 20 encontramos todos los materiales necesarios para cumplir con la extracción de este método Por lo que se puede concluir que es factible la

extracción de ácido carmínico porque podemos encontrar todo los implementos para poder realizarlo.

Demostrado cual de los métodos cumple con los estándares de calidad, se realiza el análisis financiero para poder determinar si es rentable la extracción de ácido carmínico, el único método que cumple con los requerimientos necesarios es el de extracto alcohólico de carbonato de potasio, al realizar el análisis financiero podemos encontrar que el extracto total obtenido para esta metodología es de 300 mililitros, si en el mercado se encuentra a US\$150 los 60 mL podemos obtener ingresos totales de Q5,700.00 (Véase cuadro 23) los costos fijos son de Q965.00 (Véase cuadro 24) y los costos variables son de Q3,083.00 (Véase cuadro 25). La rentabilidad que podemos obtener con este extracto es de Q40.81 quetzales por cada Q100.00 invertidos o lo que es igual a Q0.41 por cada Q1.00. Siendo esta una rentabilidad bastante aceptable para los productores de cochinilla en el área de Jalapa.

Los canales de comercialización del ácido carmínico son directos ya que hay alta demanda de ácido carmínico por empresas de cosméticos y de comestibles para Guatemala, estas empresas compran directamente el ácido carmínico a una transnacional siendo la principal vendedora de ácido carmínico en Guatemala, las empresas que más consumen este producto son empresas de embutidos como Toledo y Perry, estas empresas tienen área de producción en Guatemala y utilizan la cochinilla para colorear sus embutidos principalmente chorizos y salchichón. También se encuentran empresas de cosméticos que utilizan el tinte para cremas y pinta labios ya que es un tinte para la gama de color rojo que no es alérgico para humanos, por ser de origen orgánico.

## **10 CONCLUSIONES:**

Se evaluaron seis métodos de extracción de ácido carmínico de los cuales podemos decir que según las normas de calidad mínimos para tintes orgánicos establecidos por la FDA en el 2007 la única metodología de extracción de ácido carmínico que cumple con dichas normas de calidad es la de el extracto alcohólico con carbonato de potasio. Esta metodología cumple en totalidad con los requerimientos. Con esta extracción podemos obtener producto con 20.53% de ácido carmínico, con 1.57% de contenido proteínico y un pH de 7.58.

El laboratorio de cultivo de tejidos de la Facultad de Agronomía utilizado para realizar las extracciones de ácido carmínico cumple con los materiales y reactivos para poder realizar dichos procedimientos, no existe limitante para poder realizarlas en este laboratorio.

El método de extracto alcohólico con carbonato de potasio para obtener ácido carmínico es rentable ya que se puede obtener una rentabilidad de Q40.81, esto quiere decir que por cada Q1.00 que invirtamos en nuestro proyecto de extracción de ácido carmínico obtenemos ganancias de Q0.40.

## 11 RECOMENDACIONES

- A los productores de cochinilla: “El método que pueden utilizar para la extracción de ácido carmínico es el extracto colorante alcohólico de carbonato de potasio”.
- Para determinar qué comunidad posee mejores condiciones ambientales para la óptima producción de cochinilla, se pueden separar lotes por comunidad debido a que el color y la fuerza del carmín no dependen solamente de la concentración de ácido carmínico, están también relacionado el factor ambiental en las que fueron producidas en las comunidades.

## 12 BIBLIOGRAFÍA

- ✚ Alman, DH; Billmeyer, FW. 1976. Principios de la espectrofotometría. J. Chem. 53:193.
- ✚ Anchundia, AM; Andino, PL; Delgado, PM. 2002. Explotación de la cochinilla en Ecuador. Guayaquil, Ecuador, Instituto de Ciencias Humanísticas y Económicas. 204 p.
- ✚ BANGUAT (Banco de Guatemala, GT). 2007. Estadísticas económicas de Guatemala en los años 2001-2007 (en línea). Guatemala. Consultado 3 oct 2007. Disponible en [www.banguat.gob.gt](http://www.banguat.gob.gt)
- ✚ Bhatia, SB; Venkataraman, K. 1965. Posición del grupo en el ácido carmínico. Ind. J. Chem. 3:92.
- ✚ Bustamante, OF. 1985. Cochinilla y producción agrícola en Perú. *In* Congreso Nacional de Tuna y Cochinilla (1, 1985, GT). Resumen de los trabajos presentados. Lima, Perú, UNACH. p. 170-182.
- ✚ Escobedo, RS; Pérez, JJ. 1998. Biología y comportamiento de la grana cochinilla del nopal (*Dactylopius coccus* Costa) y su viabilidad de cultivo en la costa de Hermosillo, Sonora y regiones cercanas para la extracción y aplicación del colorante natural rojo de carmín en alimentos. Tesis Lic. Químico. México, Universidad de Sonora. 123 p.
- ✚ FDA, US. 2007. Reglamento de estándares para tintes, pinturas y lacas de productos alimenticios. (en línea). US. Consultado 15 dic 2008. Disponible en <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/col-toc.html>
- ✚ Juergens, EH. 1976. Introducción a la espectroscopia; J. Chem. 65:266,1006.
- ✚ Kornbrust, D; Bafknecht, T. 1985. Testing of 24 foods, drugs, cosmetic and fabric dyes in the in vivo/in vitro rat hepatocyte primary culture/DNA repair assays. Environmental Mutagenesis. 7:101-120.
- ✚ Macgregor, R. 1975. La grana o cochinilla del nopal usada como colorante desde el México antiguo hasta nuestros días. Rev. Cact. y Suc. 21(4):93-97.
- ✚ Marin, R; Cisneros, F. 1977. Biología y morfología de la cochinilla del carmín *Dactylopius coccus* Costa (Homoptera: Dactylopiidae). Rev. Per. Ent. 20(1):115-120.
- ✚ Méndez, G; Aquino, P; Moreno, A. 1990. Producción de grana-cochinilla fina (Homóptera: Dactylopiidae: *Dactylopius coccus* Costa) bajo diferentes condiciones de sombreado en el Altiplano Potosino-Zacatecano. In Resúmenes

- de la IV Reunión nacional sobre el conocimiento y aprovechamiento del nopal (4, 1990, MX); Congreso Internacional (2, 1990, MX). Zacatecas, México; p. 46.
- ✚ Nony, CR; Bouman, MC; Althaus, JR. 1983. Chromatographic assays for traces of potentially carcinogenic metabolites of two azodyes, direct red 2 and direct blue 12, in rat hamster and human urine. *J. of Analytical toxicology*. 7(1):40-48.
  - ✚ Pérez, M; Becerra, R. 2001. Nocheztli: el insecto del rojo carmín; *Rev. Biodiversitas*. 36(6):2-6.
  - ✚ Portillo, ML. 1992. Infestación óptima de cladiolos aislados del nopal *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. con grana cochinilla *Dactylopius coccus* Costa. Tesis Ing. Agr. Guadalajara, México, Universidad de Guadalajara. Facultad de Agronomía, 57 p.
  - ✚ Portillo, ML. 1992. Producción comparada de grana de cochinilla obtenida de dos especies de *Opuntia* en nopaloteca. *Nkari* 3(3):50-55.
  - ✚ Portillo, ML; Arreola, HJ. 1994. Los nopales hospederos de la cochinilla fina o cultivada *Dactylopius coccus* Costa. *Rev. Cact. y Suc.* 39(4):90-95.
  - ✚ Portillo, ML; Viguera, G; Zamarripa, AD. 1992. El método Ricci: una nueva técnica de infestación para la coccido-cultura. *In* Congreso Nacional (5, 1992, MX); Congreso Internacional sobre el conocimiento y aprovechamiento del Nopal (3, 1992, MX). Resúmenes. Chapingo, México, Universidad de Chapingo. p 77-78.
  - ✚ Programa Nacional de Grana-Cochinilla, MX. 1999. Estudio del cultivo de la grana en México. Chiapas, México. 79 p.
  - ✚ Ricci RW; Ditzler, MA; Nestor, LP. 1994. Como deducir la ley de Beer. *J. Chem.* 71:983.
  - ✚ Rodríguez, IR; Portillo, ML. 1989. Especies de *Opuntia* hospederas de *Dactylopius coccus* Costa. *Quepo* 3(2-3):49-53.
  - ✚ Salaverry, O. 1998. Pigmentos naturales quinónicos. Perú, Fondo Editorial UNMSM. p. 191-240.
  - ✚ Wentworth, WE. 1966. Beer law. *J. Chem.* 4:262.
  - ✚ Zimmermann, HG; Erb, HE; Macfayden, RE. 1978. Annotated list of some cactus-feeding insect of South America. *Acta Zoologica Lilloana* 33(2):101-112.

## 13 ANEXOS

### 13.1 Glosario:

Ácido Carmínico: f. Materia colorante obtenida de un insecto llamado cochinilla.

Alúmina: (Del *lat. alūmen, -ñis*, alumbre). f. Quím. Óxido de aluminio que se halla en la naturaleza algunas veces puro y cristalizado, y por lo común formando, en combinación con la sílice y otros cuerpos, los feldespatos y las arcillas.

Carmín: (De or. inc.; quizá del m. or. que *quermes* o *carmesí*). m. Materia de color rojo encendido. m. Este mismo color. Producto que se obtiene de un insecto llamado cochinilla.

Cochinilla: (Del *lat. coccīnus*, escarlata, grana, *der.* de *coccum*, quermes, insecto hemíptero). f. Insecto hemíptero, originario de México, del tamaño de una chinche, pero con el cuerpo arrugado transversalmente y cubierto de un vello blancuzco, cabeza cónica, antenas cortas y trompa filiforme. Vive sobre el nopal, y, reducido a polvo, se empleaba mucho, y se usa todavía, para dar color de grana a la seda, lana y otras cosas.

Decantar: tr. Separar un líquido del poso que contiene, vertiéndolo suavemente en otro recipiente. tr. Quím. Separar sustancias no miscibles de diferente densidad en un medio líquido.

Dimorfismo: m. *Biol.* Condición de las especies animales o vegetales que presentan dos formas o dos aspectos anatómicos diferentes.

Ebullición: (Del *lat. ebullitio, -ōnis*). f. hervor (acción y efecto de hervir).

FDA: Entidad gubernamental de Estados Unidos, son las siglas en ingles de Food and Drugs Asociation, que es la encargada de regular lo referente a medicina y comida.

Gragea: (De *dragea*). f. Confite muy menudo de varios colores. f. Med. Pequeña porción de materia medicamentosa en forma generalmente redondeada, y recubierta de una capa de sustancia agradable al paladar.

Grana: (De *grano*, *tumorcillo*). Cochinilla. f. quermes (insecto hemíptero). f. Excrecencia o agalla pequeña que el quermes forma en la coscoja, y que, exprimida, produce color rojo. f. Color rojo obtenido de este modo.

Nopal: (Del nahua *nopalli*). m. Planta de la familia de las Cactáceas, de unos tres metros de altura, con tallos aplastados, carnosos, formados por una serie de paletas ovales de tres a cuatro decímetros de longitud y dos de anchura, erizadas de espinas que representan las hojas; flores grandes, sentadas en el borde de los tallos, con muchos pétalos encarnados o amarillos, y por fruto el higo chumbo. Procedente de México.

Patrón: m. Modelo que sirve de muestra para sacar otra cosa igual.

Sedimentado: tr. Dicho de un líquido: Depositar sedimento. prnl. Dicho de las materias suspendidas en un líquido: Formar sedimento.

Sésil: (Del *lat. sessilis*, apto para sentarse). *adj. Biol.* Dicho de un órgano o de un organismo: Sujeto al sustrato.

Tamizar: tr. Pasar algo por tamiz. tr. Depurar, elegir con cuidado y minuciosidad.

### 13.2 Fotografías de producción de cochinilla en Guatemala.



Fotografía 1 Infestación de nopal con *D. coccus*.



Fotografía 2 Nopal infestado con *D. coccus*.



Fotografía 3 Producción de *D. coccus* en San Pedro Pinula.



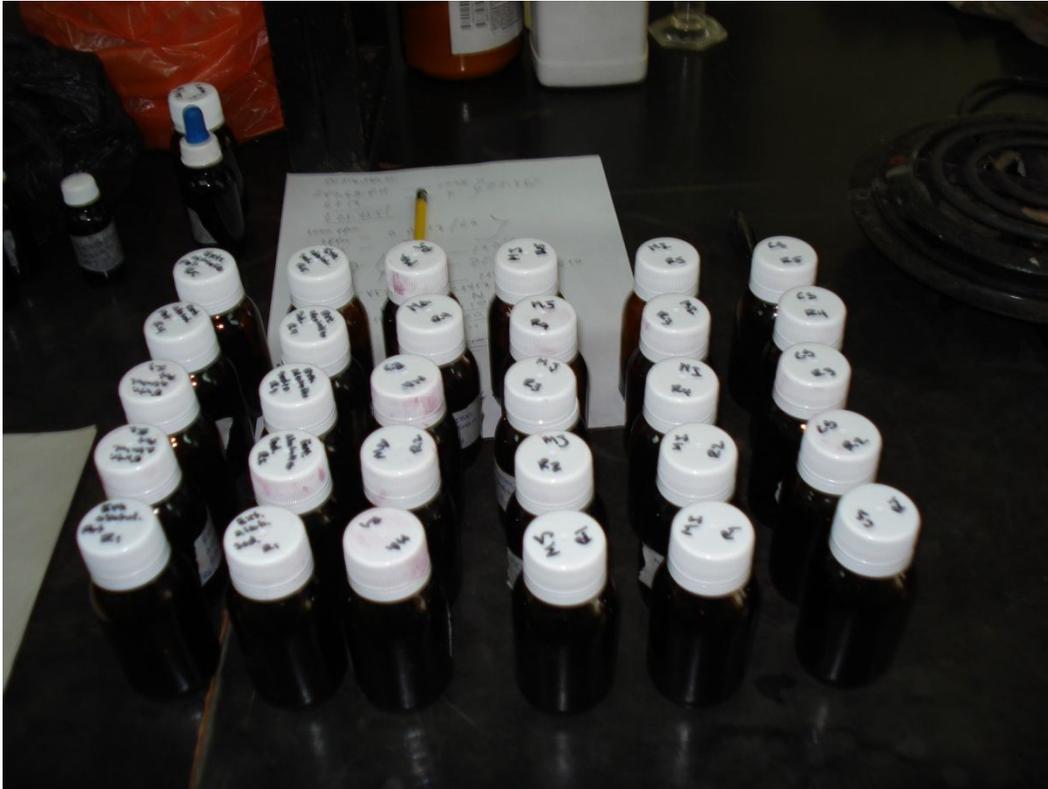
Fotografía 4 Producción de cochinilla en San Pedro Pinula.



Fotografía 5 Producción de cochinilla en El Tobón, San Pedro Pinula, Jalapa.



Fotografía 6 Cochinilla lista para la cosecha.



Fotografía 7 tratamientos y repeticiones de las muestras evaluadas.



Fotografía 8 Muestras diluidas a concentración 1:1,000



Fotografía 9 Tratamientos y repeticiones de todas las metodologías evaluadas



Fotografía 10 Colocación de celda de cuarzo de 10 mm de paso óptico en el espectrómetro



Fotografía 11 Celda de cuarzo con ácido cerámico antes de la lectura



Fotografía 12 Lectura del espectrómetro



# Ficha de Datos de Seguridad

Conforme a la Directiva 91/155/CEE de la Comisión

Fecha de emisión: 26.11.1998  
Reemplaza la emisión del 22.09.1986

## 1. Identificación de la sustancia o del preparado y de la sociedad o empresa

*Identificación de la sustancia o del preparado*

Artículo número: 100211

Denominación: escido carminico (C.I. 75470) p.a. y para microscopia

*Utilización de la sustancia/preparación*

Producto sanitario para diagnóstico in vitro

Análisis químico

*Denominación de la empresa*

Empresa: Merck KGaA \* 64271 Darmstadt \* Alemania \* Tel: +49 6151 72-2440

Teléfono de urgencias: Instituto Nacional de Toxicología \* Madrid \* Tel: 91 562 04 20

## 2. Composición/información sobre los componentes

Nr.-CAS: 1260-17-9

PM: 492.4 g/mol

Fórmula molecular:  $C_{22}H_{20}O_{13}$   
(según Hill)

Número CE: 215-023-3

## 3. Identificación de peligros

Producto no peligroso según la Directiva 67/548/CEE.

## 4. Primeros auxilios

Tras inhalación: aire fresco.

Tras contacto con la piel: aclarar con abundante agua. Eliminar ropa contaminada. Tras contacto con los ojos: aclarar con abundante agua, manteniendo abiertos los párpados. Llamar al oftalmólogo.

Tras ingestión: beber abundante agua y provocar vómitos. Llamar al médico en caso necesario.

## 5. Medidas de lucha contra incendios

Medios de extinción adecuados:

Agua, CO<sub>2</sub>, espuma, polvo.

Riesgos especiales:

Combustible. En caso de incendio posible formación de gases de combustión o vapores peligrosos.

Equipo de protección especial para el personal de lucha contra incendios:

Permanencia en el área de riesgo sólo si va provisto de sistemas respiratorios artificiales independientes del entorno.

Referencias adicionales:

Evitar la penetración del agua de extinción en acuíferos superficiales o subterráneos.

## Ficha de Datos de Seguridad Merck

Conforme a la Directiva 91/155/CEE de la Comisión

Artículo número: 100211  
Denominación: ácido carminico (C.I. 75470) p.a. y para microscopía

### 6. Medidas a tomar en caso de vertido accidental

Medidas de precaución relativas a las personas:  
Evitar la formación de polvo; no inhalar el polvo.

Medidas de protección del medio ambiente:  
No lanzar por el sumidero.

Procedimientos de recogida/limpieza:  
Recoger en seco y proceder a la eliminación de los residuos. Aclarar después.

### 7. Manipulación y almacenamiento

*Manipulación:*

Sin otras exigencias.

*Almacenamiento:*

Bien cerrado. Seco. Entre +5°C y +30°C.

### 8. Controles de exposición/protección personal

*Protección personal:*

Los tipos de auxiliares para protección del cuerpo deben elegirse específicamente según el puesto de trabajo en función de la concentración y cantidad de la sustancia peligrosa. Debería aclararse con el suministrador la estabilidad de los medios protectores frente a los productos químicos.

Protección respiratoria: necesaria en presencia de polvo.

Protección de los ojos: precisa

Protección de las manos: Para contacto pleno:

Guantes:	Caucho nitrilo
Espesor:	0.11 mm
Tiempo de penetración:	> 480 Min.

En caso de salpicaduras:

Guantes:	Caucho nitrilo
Espesor:	0.11 mm
Tiempo de penetración:	> 480 Min.

Los guantes de protección indicados deben cumplir con las especificaciones de la Directiva 89/686/EEC y con su norma resultante EN374, por ejemplo KCL 740 Dermatril® (Sumerción), 740 Dermatril® (Salpicaduras). Los tiempos de ruptura mencionados anteriormente han sido determinados con muestras de material de los tipos de guantes recomendados en mediciones de laboratorio de KCL según EN374.

Esta recomendación solo es válida para el producto mencionado en la ficha de datos de seguridad, suministrado por nosotros y para el fin indicado. Al disolver o mezclar en otras sustancias y cuando las condiciones difieran de las indicadas en EN374, debe dirigirse al suministrador de guantes con distintivo CE (por ejem. KCL GmbH, D-36124 Eichenzell, Internet: [www.kcl.de](http://www.kcl.de))

Medidas de higiene particulares:  
Sustituir la ropa contaminada. Lavar manos al término del trabajo.

## Ficha de Datos de Seguridad Merck

Conforme a la Directiva 91/155/CEE de la Comisión

Artículo número: 100211  
 Denominación: ácido carminico (C.I. 75470) p.a. y para microscopía

### 9. Propiedades físicas y químicas

Estado físico:	sólido		
Color:	rojo oscuro		
Olor:	afrutado		
Valor pH a 10 g/l H <sub>2</sub> O	(20 °C)	~ 1.6	
Punto de fusión		136 °C	(descomposición)
Punto de ebullición		no disponible	
Temperatura de ignición		no disponible	
Punto de inflamación		no disponible	
Límite de explosión	bajo	no disponible	
	alto	no disponible	
Densidad		no disponible	
Densidad de amontonamiento		490	kg/m <sup>3</sup>
Solubilidad en Agua	(25 °C)	~ 30	g/l

### 10. Estabilidad y reactividad

#### *Condiciones a evitar*

Calefacción (descomposición).

#### *Materias a evitar*

oxidantes fuertes.

#### *Productos de descomposición peligrosos*

información no disponible

### 11. Información toxicológica

#### *Toxicidad aguda*

No nos constan datos cuantitativos sobre la toxicidad de este producto.

#### *Toxicidad subaguda a crónica*

Mutagenicidad bacteriana: Salmonella typhimurium: negativa.

Mutagenicidad (ensayo de células de mamífero): ensayo de aberración cromosómica: negativo.

#### *Informaciones adicionales sobre toxicidad*

No pueden excluirse características peligrosas, pero son poco probables si su manipulación es adecuada.

#### *Información complementaria*

El producto debe manejarse con las precauciones apropiadas para los productos químicos.

## Ficha de Datos de Seguridad Merck

Conforme a la Directiva 91/155/CEE de la Comisión

Artículo número: 100211  
Denominación: escido carminico (C.I. 75470) p.a. y para microscopía

### 12. Informaciones ecológicas

Efectos ecotóxicos:  
No disponemos de datos cuantitativos sobre los efectos ecológicos del producto.

Otras observaciones ecológicas:  
¡No incorporar a suelos ni acuíferos!

### 13. Consideraciones relativas a la eliminación

*Producto:*

Los productos químicos han de eliminarse siguiendo las normativas nacionales. Bajo [www.retrologistik.de](http://www.retrologistik.de) encontrará indicaciones sobre países, indicaciones específicas de productos así como contactos.

*Embalaje:*

Los envases de productos Merck han de eliminarse siguiendo las normativas nacionales. Bajo [www.retrologistik.de](http://www.retrologistik.de) encontrará indicaciones especiales para las peculiaridades nacionales así como contactos

### 14. Información relativa al transporte

No sometido a las normas de transporte.

### 15. Información reglamentaria

*Etiquetado según Directivas de la CEE*

Pictograma: ---  
Frases R: ---  
Frases S: ---

### 16. Otras informaciones

*Razón de revisión*

Cambio en el capítulo de primeros auxilios.  
Cambio/completado en el capítulo 5.  
Cambio/completado en el capítulo 8.  
Cambio/completado en el capítulo 10.  
Cambio en el capítulo de toxicología.

Revisión general.

*Representante regional:*

VWR International S.L. \* Apartado 48 \* E-08100 Mollet del Valles \* Tel.: +34 (0) 93 5655 500 \*  
Fax: +34 (0) 93 5440 000

Merck Farma y Química, S.A. \* Apartado 47 \* E-08100 Mollet del Valles \* Tel.: +34 (0) 93 5655 500  
\* Fax: +34 (0) 93 5440 000

*Los datos suministrados en esta ficha de seguridad se basan a nuestro actual conocimiento. Describen tan sólo las medidas de seguridad en el manejo de éste producto y no representan una garantía sobre las propiedades descritas del mismo.*



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA -FAUSAC-  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONÓMICAS  
Y AMBIENTALES -IIA-



REF. Sem. 01/2009

LA TESIS TITULADA:

"EVALUACIÓN DE SEIS MÉTODOS PARA LA EXTRACCIÓN DE ÁCIDO CARMÍNICO OBTENIDA A PARTIR DE COCHINILLA (*Dactylopius coccus costa*) SEGÚN CONDICIONES DE LABORATORIO DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA".

DESARROLLADA POR EL ESTUDIANTE:

MARIO ALBERTO AGREDA RODRIGUEZ

CARNE:

200110769

HA SIDO EVALUADO POR LOS PROFESIONALES:

Ing. Agr. Francisco Javier Vásquez Vásquez  
Lic. Romeo Pérez

La Asesora y las Autoridades de la Facultad de Agronomía, hacen constar que ha cumplido con las Normas Universitarias y Reglamentos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Inga. Agr. Sonia Teresa Hernández Chacón  
A S E S O R A



Ing. Agr. Amílcar Sánchez Pérez  
DIRECTOR DEL IIA

IMPRIMASE



Ing. Agr. Francisco Javier Vásquez Vásquez  
D E C A N O

GASP/nm  
c.c. Archivo  
IIA  
Control Académico