



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE GUAYAQUIL

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

TRABAJO EXPERIMENTAL

**EXTRACCIÓN DE ÁCIDO CARMÍNICO A PARTIR DE LA COCHINILLA
(*DACTYLOPIUS COCCUS*) PARA LA PRODUCCIÓN DE PIGMENTO NATURAL
COMO ALTERNATIVA AL COLORANTE ROJO 40**

Trabajo de titulación previo a la obtención

del título de Ingeniera en Biotecnología

AUTORES:

MARÍA EMILIA PIN BUSTAMANTE

MARÍA BELÉN RIVERA MORENO

TUTOR:

ING. JOFFRE RICARDO MEDINA VILLAVICENCIO

GUAYAQUIL - ECUADOR

2024

**CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN**

Nosotros, María Emilia Pin Bustamante con documento de identificación No. 0930554910 y María Belén Rivera Moreno con documento de identificación No. 0926551854; manifestamos que:

Somos los autores y responsables del presente trabajo; y, autorizamos a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Guayaquil, 29 de febrero del año 2024.

Atentamente,



María Emilia Pin Bustamante

C.I. 0930554910



María Belén Rivera Moreno

C.I. 0926551854

**CERTIFICADO DE SESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Nosotras, María Emilia Pin Bustamante con documento de identificación No. 0930554910 y María Belén Rivera Moreno con documento de identificación No. 0926551854, expresamos nuestra voluntad y por medio del presente documento cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud que somos autores del Trabajo Experimental: "EXTRACCIÓN DE ÁCIDO CARMÍNICO A PARTIR DE LA COCHINILLA (*DACTYLOPIUS COCCUS*) PARA LA PRODUCCIÓN DE PIGMENTO NATURAL COMO ALTERNATIVA AL COLORANTE ROJO 40", el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribimos este documento en el momento que hacemos la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Guayaquil 29 de febrero del año 2024.

Atentamente,



María Emilia Pin Bustamante

C.I. 0930554910



María Belén Rivera Moreno

C.I. 0926551854

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Joffre Ricardo Medina Villavicencio con documento de identificación No. 0917305146, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: EXTRACCIÓN DE ÁCIDO CARMÍNICO A PARTIR DE LA COCHINILLA (*DACTYLOPIUS COCCUS*) PARA LA PRODUCCIÓN DE PIGMENTO NATURAL COMO ALTERNATIVA AL COLORANTE ROJO 40, realizado por María Emilia Pin Bustamante con documento de identificación No. 0930554910, y por María Belén Rivera Moreno con documento de identificación No. 0926551854, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo Experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Guayaquil, 29 de febrero del año 2024.



Ing. Joffre Ricardo Medina

C.I.0917305146

DEDICATORIA

Quiero dedicar este proyecto a la Emi chiquita que tenía muchos sueños y gracias a su perseverancia los está cumpliendo.

A mis Padres y hermana por su apoyo infinito, ustedes son mi mayor bendición.

A mi José, por ser mi lugar seguro y recordarme siempre que soy capaz de todo.

A mi Marilyn mi leal compañera, tu presencia hizo que cada desafío fuera más llevadero y cada éxito más significativo.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a todas, mis amigas de la infancia y universidad, que estuvieron presentes estos 4 años, pues este logro es gracias al amor y apoyo mutuo que siempre nos damos.

Ustedes son parte fundamental de mi historia y de quien soy hoy.

Maria Emilia Pin Bustamante

DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada a Dios Todopoderoso, a mi familia y mascotas, pero principalmente a mi madre y padre que con su fortaleza, dedicación y amor me formaron para ser quien soy hoy en día y, me enseñaron que nunca debo rendirme a mis sueños.

Les dedico esta tesis pues a ellos les debo infinitamente quien soy y quién seré en la vida.

Una vida no bastará para recompensarles.

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todos los que estuvieron a mi lado durante este viaje, ya que su compañía hizo que este camino fuera mucho más llevadero.

A un gran hombre y ser humano, Aníbal, por acompañarme durante este proceso, espero que algún día todo esto valga la pena y podamos disfrutar juntos siempre.

Realmente, les estoy muy agradecida y siempre los llevaré en mi pensamiento.

María Belén Rivera Moreno

AGRADECIMIENTO

Queremos expresar nuestro más sincero agradecimiento a nuestras maestras por ser un inspirador ejemplo de mujeres destacadas en el ámbito de la ciencia. Su compromiso con la enseñanza ha hecho de nuestra experiencia educativa algo realmente enriquecedor.

A nuestro director de Carrera Ing. José Luis Ballesteros Lara por su motivación desde el principio de la carrera.

A nuestro tutor el Ing. Joffre Medina por sus consejos y guía durante esta etapa universitaria, gracias por orientarnos correctamente y ser paciente.

A nuestro profesor Jaime Naranjo por guiarnos en la elección de nuestro tema, no cabe duda la gran dedicación que le pone a su trabajo como docente.

A nuestro profesor y amigo, Kevin Cedeño, por estar presente en la metodología de este trabajo, infinitas gracias por brindarnos serenidad en momentos de angustia.

A todas las personas que de una u otra manera nos apoyaron, ¡Gracias!

María Emilia Pin & María Belén Rivera

RESUMEN

En el contexto del presente trabajo experimental, se abordó el estudio de la grana cochinilla (*Dactylopius coccus*) y su increíble capacidad de producción de un pigmento natural conocido como ácido carmínico (AC). A lo largo de esta investigación, se llevaron a cabo una serie de experimentos diseñados para explorar diversos aspectos relacionados con la crianza, el ciclo de vida, las aplicaciones industriales de este organismo.

El estudio comenzó con la crianza de la grana de cochinilla como su primera etapa. Luego, se realizaron experimentos controlados para investigar los factores que afectan la absorbancia del ácido carmínico (AC), evaluando variables de proceso como la temperatura y la humedad. Al concluir el proyecto, se observó un marcado aumento en la población de insectos, desde los 1315 individuos iniciales hasta los 24468 al finalizar, lo que claramente indicó el éxito del protocolo implementado.

El (AC) del protocolo de crianza obtuvo un porcentaje mayor de absorbancia (0.166%), en el espectrofotómetro en comparación al (AC) de las cochinillas de control (0.160 %). Durante análisis del comportamiento solvato crómico en el equipo UV-VIS se demuestra que este colorante mantiene una longitud de onda en 620nm en ambas soluciones de pH distintos.

Se pudo evidenciar la presencia de los grupos funcionales característicos del (AC), demostrando a presencia los picos propios de su estructura molecular en los resultados evidenciados durante el uso de equipo.

Palabras claves: pigmento natural, plantas hospederas, producción, extracción, *Dactylopius coccus*, bioprospección, evaluación.

ABSTRACT

In the context of the present experimental work, the study of the grana cochineal (*Dactylopius coccus*) and its incredible capacity to produce a natural pigment known as carminic acid (CA) was addressed. Throughout this research, a series of experiments designed to explore various aspects related to the breeding, life cycle, and industrial applications of this organism were conducted.

The study began with the rearing of cochineal grana as its first stage. Then, controlled experiments were conducted to investigate the factors affecting the absorbance of carminic acid (CA), evaluating process variables such as temperature and humidity. At the conclusion of the project, a marked increase in the insect population was observed, from the initial 1315 individuals to 24468 at the end, which clearly indicated the success of the implemented protocol.

The (AC) of the rearing protocol obtained a higher absorbance percentage (0.166%), in the spectrophotometer compared to the (AC) of the control mealybugs (0.160 %). During the analysis of the chromic solvate behavior in the UV-VIS equipment, it was demonstrated that this dye maintains a wavelength of 620nm in both solutions of different pH.

The presence of the characteristic functional groups of (AC) could be evidenced, demonstrating the presence of the peaks characteristic of its molecular structure in the results evidenced during the use of the equipment.

Key words: natural pigment, host plants, production, extraction, *Dactylopius coccus*, bioprospecting, evaluation

ÍNDICE

CAPÍTULO 1	1
Antecedentes	1
1.1. Introducción	1
1.2. Problemática de la investigación.....	2
1.3. Delimitación.....	3
1.4. Pregunta de la Investigación	3
1.5. Objetivos generales y específicos	4
1.5.1. Objetivo general:	4
1.5.2. Objetivos específicos.....	4
1.6. Hipótesis.....	4
CAPÍTULO 2	5
Marco teórico	5
2.1. Ciclo biológico.....	5
Figura 1	5
2.1.1. Hembra.....	6
Figura 2	6
2.1.2. Macho.....	8
2.2. Método de infestación.....	9
2.3. Variables de crecimiento	10

2.4. Muestreo.....	11
2.5. Taxonomía.....	12
2.6. Distribución natural.....	12
2.7. Ácido Carmínico	13
2.8. Colorantes artificiales.....	14
2.9. Colorantes naturales	15
2.10. Colorante Rojo 40	15
2.10.1. Características del colorante.....	16
2.11. Aplicaciones del colorante rojo	17
2.12. Espectrofotometría UV – VIS	17
2.13. FTIR.....	18
2.14. Comportamiento solvato crómico	18
2.15. Nopal (<i>Opuntia ficus-indica</i>)	19
2.15.1 Determinación de edad de las pencas de Nopal	19
2.16. Insolación en el protocolo de crianza.....	20
2.16.1. Condiciones climáticas del lugar de estudio	21
CAPÍTULO 3	22
Materiales y métodos	22
3.1. Área de cultivo	22
3.1.1. Características climáticas del área de cultivo.....	22
3.2. Crianza de la cochinilla.....	23
3.2.1. Morfología de las pencas.....	23

3.2.2. Taxonomía de las especies forrajeras	24
3.2.3. Preparación de las pencas.....	26
3.2.4. Colección de la cochinilla	27
3.3. Infestación de las pencas	28
3.3.1 Desarrollo de la cochinilla.....	30
3.3.2. Cosecha de la cochinilla.....	31
3.4. Extracción de ácido carmínico	31
3.4.1. Preparación de la cochinilla	31
3.4.2. Eliminación de la cera.....	32
3.4.3. Secado y molienda	32
3.4.4. Extracción	33
3.4.5. Filtración y purificación.....	34
3.4.6. Secado	35
3.5. Análisis de absorbancia	35
3.5.1. Metodología de espectrometría UV-VIS para ácido carmínico.....	35
3.6. Análisis del comportamiento solvato crómico	36
3.6.1. Estabilización	36
3.6.2. Solvatocromismo.....	36
3.7 Análisis FTIR	38
CAPÍTULO 4	39
Resultados y discusión	39
4.1. Crianza de cochinilla.....	39

4.1.1. Mantenimiento y monitoreo de las pencas	39
4.1.2. Supervivencia y reproducción de <i>D. coccus</i>	51
4.1.3. Análisis morfológicos de la grana cochinilla	62
4.2. Extracción de ácido carmínico	63
4.3. Comportamiento solvato crómico	67
4.4. Resultados de FTIR.....	70
CAPÍTULO 5	74
Conclusiones y recomendaciones.....	74

Índice de ilustraciones

Figura 1 Ciclo biológico.....	5
Figura 2. Ninfa I (migrante).....	6
Figura 3. Cochinilla en su fase de reproducción	6
Figura 4. Hembra adulta.....	8
Figura 5. Adulto macho.....	9
Figura 6. Infestación de las pencas.....	10
Figura 7. Molécula de ácido carmínico.....	13
Figura 8. Especies forrajeras	26
Figura 9. Penca Infeccionada	28
Figura 10. Penca de la especie <i>Opuntia ficus – indica</i> infestada por el método de bolsas de gasa.....	29
Figura 11. Cochinillas observadas en microscopio en etapa Ninfa.....	29
Figura 12. Ovisacos observados en microscopio	30
Figura 13. Grana cochinilla sumergidas en cloroformo	32
Figura 14. Grana cochinilla colocada en estufa	33
Figura 15. Trituración en mortero	33
Figura 16. Homogenización de la mezcla	34
Figura 17. Centrifugación de la muestra	34
Figura 18. Muestra en baño María y Filtración.....	36
Figura 19. Espectrometría comportamiento solvato crómico (HCl pH4)	37
Figura 20. Espectrometría de comportamiento solvato crómico (KOH pH=6).....	38
Figura 21. Método usado para realizar el ANOVA	48
Figura 22. ANOVA de las variables ambientales de las 3 especies hospederas	49
Figura 23. Comparaciones en parejas de Tukey con confianza de 95%	50

Figura 24. Comparaciones en parejas de Tukey con confianza de 95%	50
Figura 25. Diferencias de variables Chl, N, humedad y temperatura.....	51
Figuras 26. Curva de crecimiento de la crianza de la cochinilla con relación al tiempo sobre el total de individuos	59
Figuras 27. Cálculos del parámetro de población	60
Figura 28. Curva de rango de absorbancia de la cochinilla (control).....	64
Figura 29. Curva de rango de absorbancia de la cochinilla (crianza)	66
Figura 30. Curva de rango de absorbancia del comportamiento solvato crómico	68
Figura 31. Curva de rango de absorbancia del comportamiento solvato crómico de muestra solución K(OH) más 1ppm clorofila.....	69
Figura 32. El Gráfico de dispersión de longitud de onda.....	70
Figura 33. FTIR Carmic Acid studio.....	71
Figura 34. Espectro infrarrojo de Acido carmínico comercial 5%.....	72
Figura 35. Espectro infrarrojo Acido carmínico de cochinilla crianza.....	72

Índice de tablas

Tabla 1. Taxonomía de la cochinilla (<i>Dactylopius coccus</i>).....	12
Tabla 2. Descripción del colorante Rojo 40	16
Tabla 3. Parámetros de crecimiento de <i>Opuntia ficus</i> – indica para la crianza de la grana cochinilla.....	40
Tabla 4. Parámetros de crecimiento de <i>Opuntia ficus</i> – indica ornamental para la crianza de la grana cochinilla	43
Tabla 5. Parámetros de crecimiento de <i>Brasiliopuntia brasiliensis</i> para la crianza de la grana cochinilla.....	46
Tabla 6. Tabla de vida de la cochinilla (<i>Dactylopius coccus</i>) con su distribución de supervivencia a lo largo del tiempo.....	56
Tabla 7. Características morfológicas de <i>D. coccus</i> (control y crianza).....	62
Tabla 8. Réplicas de análisis de espectrometría de cochinilla (control).....	63
Tabla 9. Réplicas de análisis de espectrofotometría de cochinilla (crianza)	65
Tabla 10. Escan. Longitud de onda cochinilla control	68
Tabla 11. Escan. Longitud de onda muestra solución K(OH) más 1ppm clorofila ..	69
Tabla 12. Asignación de Números de Onda a Grupos y Posibles Compuestos.....	73

Índice de ecuaciones

Ecuación 1. Determinación de media de las tomas	41
Ecuación 2. Densidad de insectos	52
Ecuación 3. Determinación de la cantidad de insectos por cuadrante.....	55
Ecuación 4. Tasa promedio de supervivencia de la cochinilla	58
Ecuación 5. Incremento poblacional de la cochinilla.....	61
Ecuación 6. Población total de la cochinilla (toma periódica).....	61
Ecuación 7. % de ácido carmínico presente.....	66

CAPÍTULO 1

Antecedentes

1.1. Introducción

Desde principios prehispánicos la grana cochinilla forma parte de la historia destacando por su pigmento rojo llamativo popularmente se le llama grana cochinilla al insecto del cual se obtiene el colorante. Su nombre científico es *Dactylopius coccus*; en náhuatl se le llamó nocheztli que significa “sangre de nopal” y en mixteco ndukun “insecto sangre”, cada cultura aborígen prehispánica tenía un nombre diferente para este insecto. Este elemento etnolingüístico sugiere que este tinte ya era conocido y utilizado por distintos pueblos antes de la llegada de los españoles (Núñez, 2020).

El ácido carmínico es un colorante natural el cual ha sido utilizado en distintas aplicaciones como en la industria textil, cosmética, alimenticia, aunque este ha sido reemplazado por colorantes sintéticos u artificiales cuyo costo de producción es menor y su estabilidad es más rentable para las industrias (Vega, 2023). Los tintes naturales se ofrecen como opción también son una solución valiosa para la creciente demanda de etiquetas limpias libres de aditivos (Gómez, 2016).

Los fabricantes han optado por volver a los colores naturales, porque los colores sintéticos y artificiales ya no son del agrado de los consumidores (Bahena, 2023). En los últimos diez años, una mayor cantidad de personas han optado por productos naturales debido a la afirmación de muchos grupos que este tipo de tintes puede causar efectos secundarios graves como hiperactividad, alergias e incluso problemas intestinales (Farbe, 2018).

1.2. Problemática de la investigación

La grana cochinilla es una plaga que afecta aproximadamente a 16 especies de cactus en diferentes regiones geográficas del mundo. Provoca pérdidas económicas de millones de dólares al año, ya sea por pérdida de producción o costos de control de plagas (Mohamed El Aalaoui & Sbaghi, 2022). Se puede aprovechar esta problemática y cultivarla hasta llegar a la producción y comercialización de ácido carmínico mediante el uso de protocolos de crianza adecuados (Savino & Savino, 2016)

Durante muchos años, la extracción de ácido carmínico se ha mantenido como una tradición artesanal familiar. Sin embargo, con la llegada de los colorantes artificiales, el comercio se vio afectado porque estos colorantes eran más fáciles de producir cantidades industriales (El País, 2023)

Los costos de la grana cochinilla van desde 40-80 dólares por kilo , Sus costos en el mercado internacional son elevados debido a la escasez de oferta en el mercado global y al consumo constante de ácido carmínico frente a colorantes artificiales (Barahora, 2011)

. La producción de algunos colorantes sintéticos como el Rojo 40 implica el uso de derivados de petroquímicos, con posibles impactos ambientales negativos y daños a la salud (Farms, 2024) existen alternativas con colorantes naturales extraídos de plantas o insectos.

En el Ecuador existen normas INEN que limitan el uso de ciertos colorantes artificiales, asegurar el estricto cumplimiento de estas normativas puede ser un desafío, y ha habido casos de uso no autorizado o excesivo de algunos colorantes.

1.3. Delimitación.

El estudio fue desarrollado en las instalaciones de la Universidad Politécnica Salesiana sede Guayaquil – Ecuador campus María Auxiliadora Vía a la costa Km 19.

El protocolo de crianza concurrió en un aula climatizada con temperatura 19 °C, de igual manera la humedad de esta área se mantuvo controlada entre 60% y 75% con la ayuda de un termohigrómetro, además el área contó con una buena iluminación natural y artificial, Estos requerimientos nos favorecieron a los resultados esperados.

Las distintas metodologías fueron ejecutadas en el laboratorio de Ciencias de la Vida donde se realizó la extracción de ácido carmínico y en el laboratorio de Química Analítica se llevó a cabo el estudio del comportamiento solvato crómico del pigmento natural, de manera externa se ejecutó el análisis de FTIR.

Los recursos de la investigación fueron suministrados dentro del proyecto "Caracterización de cinco insectos de interés biotecnológico en el remanente boscoso seco tropical del campus María Auxiliadora de la Universidad Politécnica Salesiana sede Guayaquil (insectos)" dentro del Grupo de Investigación en Aplicación Biotecnológicas (GIAB).

1.4. Pregunta de la Investigación

¿Cómo puede la investigación en la extracción de ácido carmínico de la cochinilla contribuir a la innovación y al desarrollo sostenible en la producción de pigmentos naturales a nivel industrial?

1.5. Objetivos generales y específicos

1.5.1. Objetivo general:

Extraer ácido carmínico para la producción de un pigmento natural a partir de la cochinilla (*Dactylopius coccus*) como alternativa al colorante Rojo 40.

1.5.2. Objetivos específicos

- Determinar un protocolo de crianza de cochinilla (*Dactylopius coccus*) con tres especies forrajeras.
- Evaluar el comportamiento solvatocrómico del ácido carmínico extraído de cochinilla (*Dactylopius coccus*).
- Identificar los grupos funcionales del ácido carmínico puro mediante espectroscopia IFTR para establecer un perfil de referencia, facilitando así su identificación y cuantificación precisa en diversas muestras y aplicaciones.

1.6. Hipótesis

La extracción del colorante natural de la grana cochinilla (*Dactylopius coccus*) dará como resultado ácido carmínico el cual será usado en reemplazo al colorante artificial Rojo 40.

CAPÍTULO 2

Marco teórico

La cochinilla, un insecto nativo de América del Sur subtropical hasta el suroeste de los Estados Unidos, ha tenido un impacto significativo en el desarrollo económico y cultural a lo largo de la historia (Schneider, 2022). Perteneciente la familia *Dactylopiidae* se distingue por su pigmento rojo carmín hasta un púrpura azulado (Acosta & Ruiz, 2023). Habita exclusivamente de las plantas cactáceas, la más utilizada es la tuna cuyo nombre científico es *Opuntia ficus-indica* (Briggeman, 2016).

2.1. Ciclo biológico

Figura 1

Ciclo biológico de grana cochinilla (Dactylopius coccus)



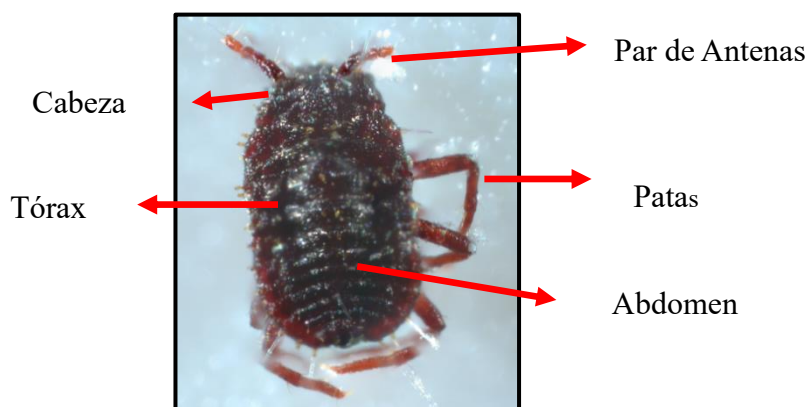
Nota. Elaborado por Pin & Rivera, 2024.

2.1.1. Hembra

La grana de cochinilla comienza a desarrollarse en óvulos fecundados que se almacenan dentro de ovisacos, durante un período de 10 a 20 días. Después, durante la eclosión, nace la Ninfa I. La ninfa comienza su migración recorriendo la penca hasta encontrar un lugar cómodo para alimentarse de la sabia del nopal, una vez adherida pasa a su siguiente etapa biológica (Mandujano, 2021).

Figura 2

Ninfa I (migrante)

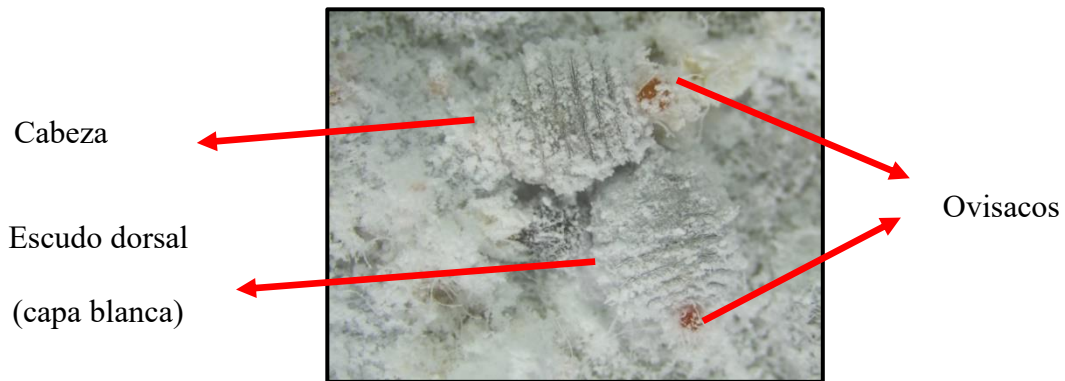


Nota. Imagen tomada en estereoscopio Leica S8 APO por Pin & Rivera, 2024.

La primera fase de cambio tiene lugar aproximadamente entre los días 25 y 38, cuando la ninfa se despoja de su caparazón exterior, es entonces que la nueva ninfa (II) emergió con un tono carmesí y experimentó alteraciones morfológicas como la recubierta de cera blanca en forma de polvo sobre ella y además ya no se producen los filamentos de la primera etapa Ninfa. Además, se produce una segunda muda a los 36-57 días de la primera donde la cochinilla aumenta su tamaño (Mandujano, 2021).

Figura 3

Cochinilla en su fase de reproducción

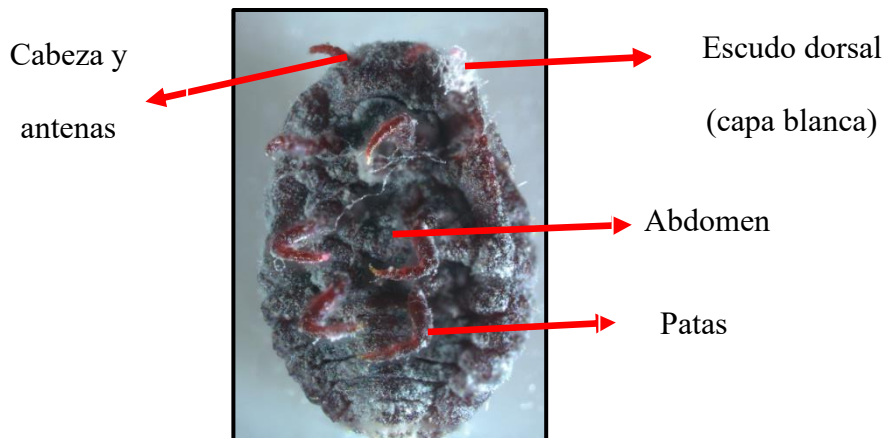


Nota. Imagen tomada en estereoscopio Leica S8 APO por Pin & Rivera, 2024.

Como última fase dentro del ciclo se encontrará la etapa Adulta de donde podremos extraer ácido carmínico. Tras presentarse la segunda muda el cuerpo de la cochinilla empezará a crecer rápidamente, tomará la forma ovalada que la representa y adaptará su cuerpo según las condiciones que necesite para sobrevivir a algún ambiente. De aquí de 57 a 90 días después se alcanza la madurez sexual necesaria para reproducir los huevos con la ayuda del macho (Mandujano, 2021).

Figura 4

Hembra adulta



Nota. Imagen tomada en estereoscopio Leica S8 APO por Pin & Rivera, 2024.

2.1.2. Macho

El ciclo biológico de la grana macho es más breve que el de la hembra, oscilando entre 58 y 65 días, en comparación con los 90 a 120 días necesarios para las hembras (Nejad & Nejad, 2013).

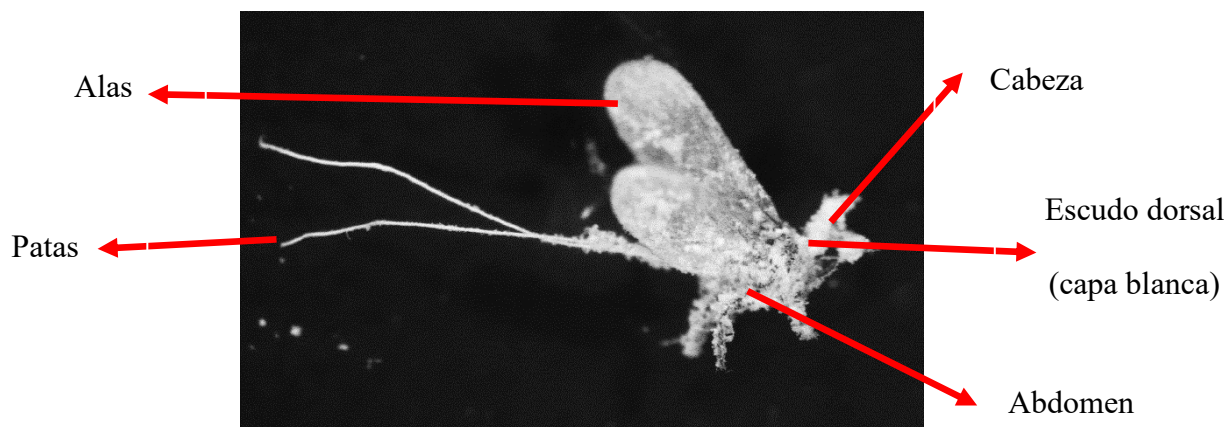
En la fase de prepupa el macho se prepara para la forma final, en la pupa el insecto llega a su etapa Adulta y se encierra dentro de un capullo que lo protege mientras dure su desarrollo, y por último se convierte en un insecto alado listo para reproducirse.

Las ninfas macho se alimentan del cactus hasta alcanzar la madurez sexual; cuando maduran no pueden alimentarse en absoluto y viven sólo lo suficiente para fertilizar los huevos (Nejad & Nejad, 2013). En la fase adulta, los machos de la grana cochinilla se centran en la reproducción. En esta fase del proceso, el macho se aproxima a la hembra posicionándose en ambos lados del cuerpo para introducir el líquido seminal en las dos aberturas genitales

que posee . Posterior al apareamiento las hembras colocan los huevos fecundados en la penca anfitriona (Min. de Desarrollo Agrario y Riesgo, 2021).

Figura 5

Adulto macho



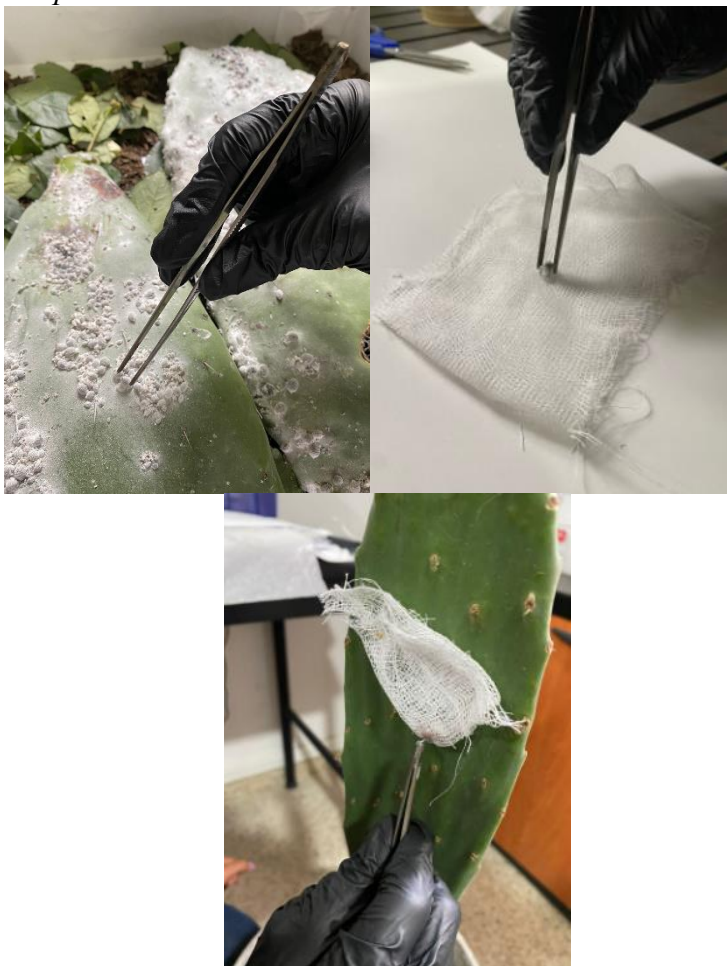
Nota. Imagen tomada en estereoscopio Leica S8 APO por Pin & Rivera, 2024

2.2. Método de infestación

Consiste en recolectar hembras adultas en recipientes que son cubiertos con gasa o algodón; luego de la postura y la presencia de ninfas en la gasa, ésta es trasladada hacia el lugar de infestación para ser colocada en los cladodios donde las ninfas I empiezan a movilizarse y migrar hacia toda la superficie del cladodio (GUSQUI, 2012).

Figura 6

Infestación de las pencas



Nota. Tomada por Pin & Rivera, 2024.

2.3. Variables de crecimiento

Factores abióticos como la temperatura, humedad relativa y luz ejercen influencia en el desarrollo y reproducción de la grana cochinilla. Las temperaturas bajas (10-15°C) y altas (30-35°C) pueden tener un impacto negativo en el crecimiento y desarrollo de los órganos, así como en la fertilidad y el desarrollo de los embriones (Romero López, 2006).

Normalmente durante la reproducción de esta especie se deberán tener en cuenta algunas condiciones óptimas de crecimiento como lo es la temperatura pues si no se encuentran en un rango de 24 - 32°C no emergerían los adultos (Campos & Llanderal, 2003).

La humedad también juega un papel muy importante, pues el exceso de humedad podría significar cambios negativos dentro del crecimiento y maduración del insecto

2.4. Muestreo

En nuestro trabajo, optaremos por el método de muestreo por cuadrantes. Esta estrategia implica dividir el área de estudio en secciones uniformes y luego realizar conteos o muestreos dentro de cada una para determinar la presencia y cantidad de los organismos observados. Esta técnica resulta particularmente útil en el conteo de insectos cuando estos están dispersos de manera desigual en el área (Ramírez, 2012).

Al realizar conteos sistemáticos en cada cuadrante, se logra obtener una estimación más precisa de la densidad de insectos en toda el área de estudio. Es importante destacar que esta técnica puede ajustarse según las necesidades específicas de la investigación, incluyendo el tamaño de los cuadrantes, la frecuencia de muestreo y el método de conteo utilizado. Además, el muestreo por cuadrantes puede complementarse con otros métodos, como trampas de insectos o recolección manual, para obtener una evaluación más exhaustiva de la comunidad de insectos presente en un área determinada (Ramírez, 2012).

2.5. Taxonomía

Tabla 1

Taxonomía de la cochinilla (Dactylopius coccus)

Nombre científico	<i>Dactylopius coccus</i>
Reino	Animalia
Filo	Arthropoda
Clase	Insecta
Orden	Hemípteros
Familia	Dactylopiidae
Especie(s)	<i>Dactylopius coccus</i> ; Costa, 1835

Nota. Adaptado de *Dactylopius coccus*, de Ecuared, 2024

2.6. Distribución natural

Es común tanto en climas cálidos como en climas secos, esta especie prospera en climas estables tropicales y subtropicales. La cochinilla se encuentra principalmente en Perú, Chile y las Islas Canarias, donde se produce la mayor cantidad de este insecto. A pesar de esto, se está cultivando en otros países como México, Bolivia, Sudáfrica y Argentina. (CanariWiki, 2014).

El Perú ostenta el liderazgo mundial en la producción de cochinilla, aproximadamente el 84% de la demanda global, lo que se traduce en alrededor de 1500 toneladas anuales. Las Islas Canarias contribuyen con un 8%, mientras que Chile, Bolivia y México participan con un 6,2, 2%, respectivamente, en la producción total. En 2021, las exportaciones de cochinilla y sus derivados desde Perú ascendieron a 1.985.549 kg, generando ingresos por US\$

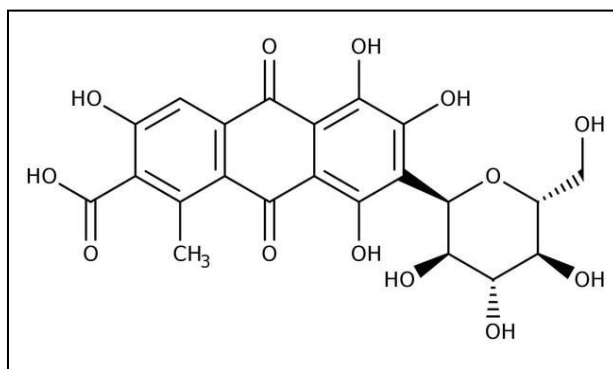
91.950.078. Este resultado representó un incremento del 20.64% en volumen y un 18.66% en valor en comparación con los 1.645.836 kg por US\$ 77.485.721 registrados en 2020 (Agraria.pe, 2022) .

2.7. Ácido Carmínico

También conocido como E-120, el ácido carmínico es una sustancia química utilizada como colorante rojo extraído de un insecto de la variedad de la cochinilla *Dactylopius* (debazan, 2020)

Figura 7.

Molécula de ácido carmínico



Nota. Obtenido de (ishersci.es, 2024)

El ácido carmínico se utiliza comúnmente como colorante alimentario para dar tonos rojos, púrpuras y rosados a productos como alimentos, bebidas, yogures, confitería y productos de panadería. El carmín, por su parte, corresponde a la laca del ácido carmínico, que se obtiene precipitando este último sobre sales de aluminio y calcio, dándole un color rojo intenso independientemente del pH.

El carmín se utiliza ampliamente como colorante en carnes, productos lácteos, confitería, alimentos extruidos, conservas y bebidas alcohólicas (Flavorix, 2017). Los diversos estudios demuestran que es un producto muy estable ante la luz, tratamientos térmicos, oxidación y al dióxido de azufre, presentando mejor resistencia comparado con colorantes sintéticos.

2.8. Colorantes artificiales

Se utilizan desde antes del siglo XIX, se utilizaban pigmentos de extractos vegetales y posteriormente se comenzaron a usar pigmentos minerales, pero estos eran tóxicos, por ello comenzaron a sustituirse cuando se obtuvieron pigmentos orgánicos de manera sintética a mediados del siglo XIX (Farbe, 2018).

Los colorantes alimentarios artificiales atraen y mejoran la apariencia de los alimentos y pueden conservar el color del alimento original durante más tiempo. Los colorantes artificiales son productos industriales que tienen posibles efectos adversos (Nwe Nwe Oo, 2019).

Entre los colorantes más utilizados están los denominados como azoicos estos son aprobados para su uso como aditivos alimentarios, son solubles en agua porque contienen grupos de ácido sulfónico. Aunque estos colorantes sintéticos han sido cuestionados porque se ha demostrado que muchos colorantes de este grupo (los que no están aprobados para uso alimentario) son cancerígenos en experimentos con animales (Calvo, 2016).

Así como afirman los autores mencionados estos colorantes sintéticos son compuestos químicos diseñados para agregar color a una variedad de productos, como

alimentos, cosméticos, textiles y productos farmacéuticos. Estos tintes se sintetizan sintéticamente en laboratorios y se pueden utilizar en una variedad de aplicaciones, proporcionando una variedad de colores dinámicos.

2.9. Colorantes naturales

Pueden tener un origen biológico (verduras, frutas, especias), o mineral. Estas se pueden emplear como colorante para diversas aplicaciones en la industria los colores naturales son bastante estables, lo que quiere decir que no se degradan o cambian de color al ser utilizados en los alimentos (García, 2023).

La mayoría de los colorantes minerales no se pueden utilizar en la industria alimentaria porque son perjudiciales para los humanos. Por el contrario, la mayoría de los colorantes vegetales, animales y microbianos no sólo son seguros y confiables, sino que también tienen funciones nutricionales y actividades farmacológicas como antioxidantes, antiinflamatorias, anticancerígenas, anti-obesidad, antibacterianas y antivirales (Li, 2022).

Teniendo en cuenta lo citado por los autores estos colorantes naturales se utilizan a menudo para mejorar la aceptabilidad de determinados alimentos haciéndolos más atractivos y para evitar el uso de colorantes sintéticos de dudosa seguridad.

2.10. Colorante Rojo 40

También conocido como rojo Allura Red, E129, CI Food Red # 17, CI # 16035, CAS # 25956-17-6, es un colorante artificial muy utilizado que pertenece a la familia de los colorantes azo.

Se clasifica como colorante sintético debido a su proceso de fabricación y composición química. La vibrante tonalidad roja del Rojo 40 lo ha hecho popular en diversas industrias, en especial para el sector de la alimentación y las bebidas (imbarex, 2023).

El rojo Allura conocido también como rojo 40 con número E 129, es un colorante alimentario sintético de naturaleza azoica (-N=N-), con una Ingesta Diaria Admisible (IDA) de 7mg/kg de peso corporal por día recomendado por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (ESFA por sus siglas en inglés) (Dey, 2019).

Este colorante es conocido por su estabilidad y capacidad para mantener su color bajo diversas condiciones, como la luz, el calor y el pH brinda una gama de tonalidades rojas estas benefician a los distintos usos en la industria alimenticia.

2.10.1. Características del colorante

Tabla 2

Descripción del colorante Rojo 40

Nombre de la sustancia	Fórmula molecular	Masa molar	No CAS	No CE
Rojo Allura (C.I. 16035)	$C_{18}H_{14}N_2Na_2O_8S_2$	496,4 g /mol	25956-17-6	247-368-0

Nota. Adaptado de Ficha de datos de seguridad, (carlroth, 2020).

2.11. Aplicaciones del colorante rojo

El colorante rojo, ya sea natural o sintético, se utiliza en diversas aplicaciones en diferentes industrias debido a su capacidad para proporcionar colores vibrantes y atractivos. Es utilizado en productos cárnicos, bebidas, licores, golosinas, lácteos, jugos, gelatinas, cosméticos, farmacéuticos, entre otros (natural, 2018).

2.12. Espectrofotometría UV – VIS

Un espectrofotómetro UV-VIS emplea la ley de Beer-Lambert para cuantificar la absorbancia en el espectro UV-VIS. La medición implica evaluar la intensidad de la luz que atraviesa la solución de muestra en la celda y compararla con la intensidad inicial antes de pasar por la muestra. Los componentes esenciales de un espectrofotómetro UV-visible incluyen una fuente de luz, un soporte para la muestra, un dispositivo dispersor que separa la luz en diferentes longitudes de onda y un detector apropiado (Metter Toledo, 2023).

Los grupos funcionales de moléculas, así como el contenido y la fuerza de una sustancia, se pueden identificar mediante espectroscopia UV-visible. Se utiliza con frecuencia para calcular la cantidad de componentes en soluciones de iones de metales de transición y compuestos orgánicos altamente conjugados (cromtek, 2023).

Dentro de este orden de ideas se debe tener en cuenta que un análisis cualitativo en espectrofotometría implica la identificación de sustancias químicas basándose en sus patrones de absorción de luz en diferentes longitudes de onda. Mientras que El análisis cuantitativo en espectrofotometría implica determinar la concentración de una sustancia específica en una muestra mediante la medición de la absorbancia de la luz por esa sustancia a una longitud de onda específica.

2.13. FTIR

La espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier, también conocida como análisis FTIR o espectroscopia FTIR, es una técnica analítica utilizada en la industria y laboratorios académicos para investigaciones. Este método permite identificar materiales orgánicos, poliméricos y, en algunos casos, inorgánicos. El equipo utiliza luz infrarroja para absorber a frecuencias específicas directamente relacionadas con las energías de enlace vibratorio interatómico de la molécula de tal manera se puede escanear muestras de prueba y observar propiedades químicas.

2.14. Comportamiento solvato crómico

Las modificaciones que se producen en los espectros de absorción y de excitación y emisión fluorescente para ciertas moléculas orgánicas dependiendo de las características de polaridad del entorno se conocen con el nombre de efecto solvato crómico, Este fenómeno se observa comúnmente en compuestos orgánicos que muestran propiedades cromóforas o fluoróforas, es decir, tienen grupos funcionales capaces de absorber o emitir luz (Ale, 2018).

En resumen, el efecto solvato crómico es un fenómeno interesante en el que las propiedades espectrales de una sustancia se ven afectadas por la interacción con el disolvente circundante, se puede utilizar en diversos campos de la química y puede proporcionar información valiosa sobre las interacciones moleculares y las propiedades de los compuestos.

La elección de los solventes es considerada de acuerdo con la polaridad, teniendo en cuenta que se vuelve más evidente en las interacciones disolvente-tinte en estado solvatado (Akpe et al., 2022).

Las condiciones del pH causan variaciones de color significativas, la solución aparece de color naranja en soluciones ácidas, mientras que en condiciones básicas aparece de color violeta (Toppr-guides, 2020) Dicha influencia se basa en la polaridad del disolvente, que altera el espectro de absorción y fluorescencia (G. Suganthi et al., 2010).

Los datos son obtenidos por la lectura del scan de longitud de onda mediante el equipo de espectrofotometría UV-VIS , estos datos son ordenados en una tabla donde se obtendrá el promedio útiles para la interpretación grafica de los resultados

2.15. Nopal (*Opuntia ficus-indica*)

El nopal es originario de América, se distribuyó desde México hacia España y se ha difundido en África, Asia, Europa y Oceanía. es una fuente de diversos componentes bioactivos y tecno-funcionales que pueden ser aprovechados para el desarrollo de nuevos productos (A. Ponce-Luna, 2023).

Los cactus se cultivan en varias regiones del Perú, incluida Lima, mientras que el airampo se encuentra en la región de Apurímac, del nopal se elaboran jugos, miel, quesos, malvaviscos, sopas, jaleas y finos vinos; también se pueden producir tintes; además, se utiliza como huésped de plantas ornamentales e insectos cochinillas (Jorge, 2016).

2.15.1 Determinación de edad de las pencas de Nopal

La edad reproductiva de los cactus oscila entre los 3 y los 15 años, las plantas de nopal tienden a producir nuevas pencas cada año durante su temporada de crecimiento.

Contar el número de pencas puede darte una idea aproximada de la edad de la planta, tardan unos tres años en empezar a producir bien. Hay algunos cactus a los que les crecen pencas a la edad de dos años (López, 2020).

Es recomendable examinar las pencas más antiguas en la base de la planta. Las pencas más viejas a menudo pueden volverse más leñosas y fibrosas con el tiempo, lo que podría indicar el crecimiento dado durante más tiempo (Loayza & Chávez, 2007).

Así como señalan los autores se debe tener en cuenta varios factores para determinar el crecimiento tales como:

- Número de pencas
- Altura y tamaño
- Observación de las pencas
- Condiciones ambientales

2.16. Insolación en el protocolo de crianza

Víctor Tello Mercado & Fernando (2015) expresaron que la radiación de luz visible (400-700 nm) tiene un efecto positivo sobre la concentración de ácido carmínico en los cuerpos de las hembras de grana cochinilla, pues al aumentar el tiempo de exposición lumínica diaria aumenta su concentración de ácido carmínico, no obstante, también prolonga el ciclo de vida del insecto.

En otro estudio sobre la influencia del fotoperiodo de grana cochinilla infieren que el incremento de las horas luz, la duración del ciclo de desarrollo de *D. coccus* se reduce, pero

su mortalidad se incrementa. Los regímenes de 12 horas de oscuridad y 12 horas de luz favorecen la supervivencia y la fecundidad de *D. coccus* (L.A. Tarango-Arámbula et al., 2014).

Luego de esta revisión bibliográfica para obtener un método de insolación para el protocolo de crianza se determinó la exposición solar de 12 horas debido a las condiciones geográficas y 12 horas de oscuridad.

2.16.1. Condiciones climáticas del lugar de estudio

Las condiciones climáticas en Guayaquil, la ciudad más grande de Ecuador y en el camino hacia la Costa que conecta la ciudad con las hermosas playas de esta región, son tropicales y cambiantes.

Ubicada en la zona costera, Guayaquil tiene un clima cálido durante todo el año con una temperatura promedio de 24 a 31°C durante el mes de enero y debido a su cercanía al Océano Pacífico, la humedad relativa varía entre el 39 y 90 %, dando como resultado una sensación especial de calidez; por otro lado, las rutas que recorren la costa del Ecuador tienen un microclima influenciado por la topografía y la vegetación circundante. El clima en esta ruta puede variar mucho, desde el calor sofocante de Guayaquil hasta brisas frescas, y algunas partes de la ruta pueden experimentar lluvia (INAMHI, 2024).

CAPÍTULO 3

Materiales y métodos

3.1. Área de cultivo

La región de cultivo de la “cochinilla” (*Dactylopius coccus*) se realizó en la ciudad de Guayaquil, provincia del Guayas, dentro de la Universidad Politécnica Salesiana en el campus María Auxiliadora, en un espacio de 12 m² utilizando la técnica de crecimiento en macetas.

Este método consiste en mantener a las plantas en macetas en lugar de directamente en el suelo porque de esta manera, según información encontrada en estudios de (Berhe, 2023), es más factible controlar y monitorear el crecimiento y la salud de las plantas en un entorno cerrado o semicerrado para el protocolo implementado. Además, hay evidencia de personas con una producción exitosa de cochinilla en terrenos cerrado o semicerrado.

Empleamos el método de crianza en bolsas de gasa; dicho método trata sobre mantener las pencas cortadas y recostadas sobre tierra mientras se encuentran en condiciones controladas y las cochinillas se colocan dentro de bolsas de gasa en las plantas hospederas. Estos sistemas, manifiesta (Aquino, 2016), tienen la ventaja al estar en un espacio reducido pues se pueden controlar factores de crecimiento de la cochinilla.

3.1.1. Características climáticas del área de cultivo

La importancia de considerar diversas condiciones ambientales en la implementación de un protocolo de crianza efectivo para las cochinillas ha sido abordada por varios autores. Desde la necesidad de secar la cochinilla hasta un contenido de humedad del 7 al 10% para incrementar la calidad de la materia prima (FAO, 2006), hasta la importancia de considerar las condiciones ambientales en la producción de cochinilla, incluyendo el ciclo biológico y

el hospedero de la cochinilla (Barreda, 2020) (Wiersum, 1997). Estos ejemplos respaldan la idea de que diversos autores han destacado la relevancia de las condiciones ambientales en la crianza de cochinillas.

Cultivar cochinilla en un entorno al aire libre podría conllevar riesgos significativos debido a diversas razones, entre ellas se incluyen condiciones climáticas adversas, factores físicos y otros elementos pertinentes. La grana cochinilla se vería afectada por la insolación, alterando su desarrollo y reproducción, las altas temperaturas y la exposición intensa al sol pueden disminuir la reproducción y supervivencia de estos insectos. Además, la calidad del forraje también se ve comprometida, pues la insolación puede modificar la morfología y composición química de las plantas de nopal, generando manchas y provocando la muerte de estas, lo que resulta en una reducción en la calidad del forraje (CESAVE).

Con este propósito, se utilizó un espacio físico estandarizado para mantener las condiciones de factores como la temperatura (20 – 26°C), la humedad al 50 – 70% y mantener un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Este enfoque permitió gestionar de manera precisa las condiciones necesarias para el óptimo desarrollo de los insectos, asegurando así un ambiente propicio para su crianza.

3.2. Crianza de la cochinilla

3.2.1. Morfología de las pencas

Para el proceso de crianza, se seleccionaron tres especies forrajeras, *Opuntia ficus-indica*, *Nopal ornamental* y *Brasiliopuntia brasiliensis*. Las vamos a poder identificar primero a *Opuntia* por su color verde claro, por poseer un tallo plano y segmentado en forma de paletas los cuales suelen tener espinas grandes y agrupadas, aunque algunas variedades pueden carecer de ellas, de la misma especie la vamos a encontrar con una imagen un poco más

arreglada o decorativa y la observaremos con las características antes mencionadas con la diferencia de que esta planta no poseerá espinas.

A diferencia de *Opuntia*, *B. brasiliensis* es un tipo de cactus con un tallo alto y delgado con segmentos largos y redondos cubiertos de pequeñas espinas separadas entre ellas. Se lo puede identificar por su color verde claro, por poseer un tallo plano y segmentado en forma de paletas los cuales suelen tener espinas grandes y agrupadas, aunque algunas variedades pueden carecer de ellas.

3.2.2. Taxonomía de las especies forrajeras

Las taxonomías de las especies fue investigada en la fuente de datos en inaturalis app para mapeo de biodiversidad e identificación de especies.

Opuntia ficus-indica fue descrita primero por Carlos Linneo en Species Plantarum en 1753 como *Cactus ficus-indica*.

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Caryophyllales*

Familia: *Cactaceae*

Subfamilia: *Opuntioideae*

Género: *Opuntia*

Especie: *O. ficus-indica*

Opuntia tomentosa fue descrita por Joseph de Salm-Reifferscheidt-Dyck y publicado en Observ. Bot. Horto Dyck en 1822.

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Caryophyllales*

Familia: *Cactaceae*

Subfamilia: *Opuntioideae*

Género: *Opuntia*

Especie: *Opuntia tomentosa*

Brasiliopuntia brasiliensis fue descrita por (Willd.) A.Berger y publicado en Botaniska Notiser, Supplement en 1948.

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Caryophyllales*

Familia: *Cactaceae*

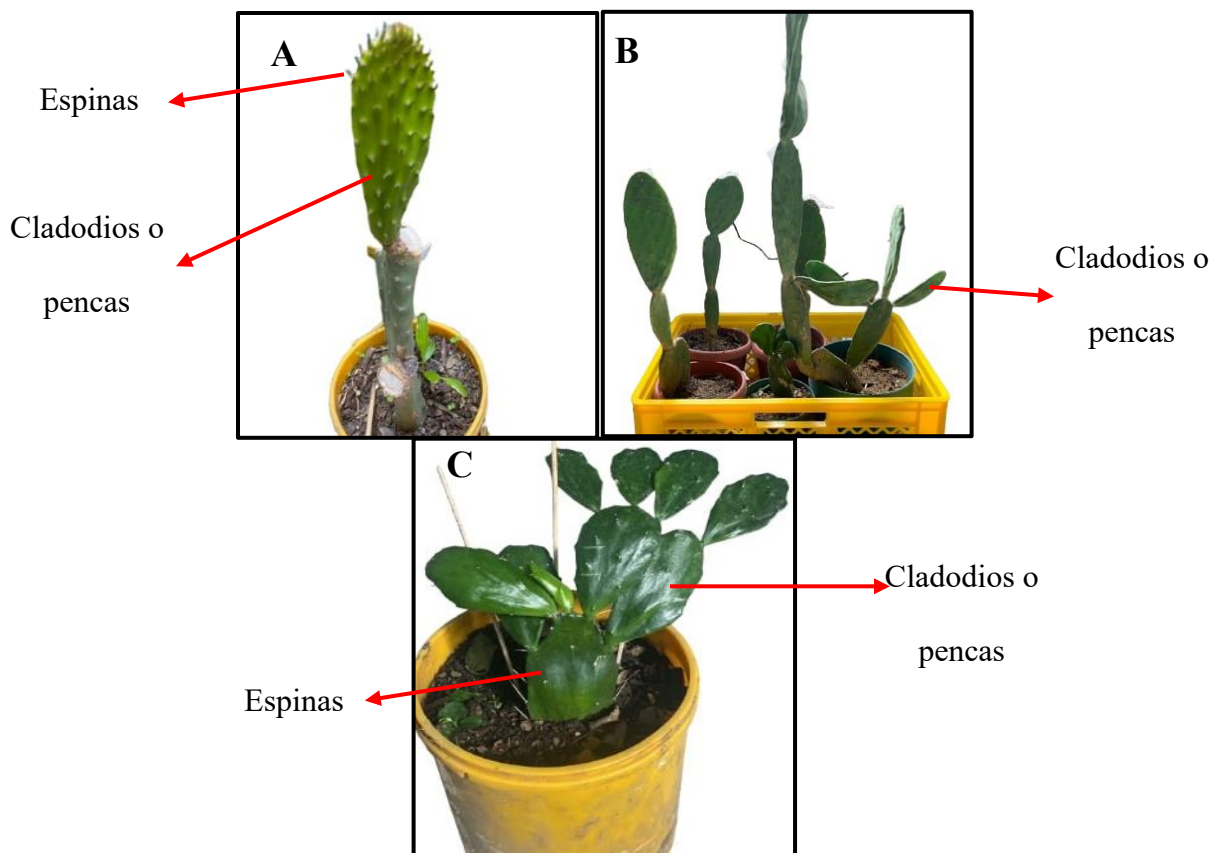
Subfamilia: *Opuntioideae*

Género: *Brasiliopuntia*

Especie: *B.brasiliensis*

Figura 8

Especies forrajeras



Nota. A) *Opuntia ficus – indica*; B) *Brasiliopuntia brasiliensis* y C) *Nopal ornamental*.

Tomada por Pin & Rivera, 2024

3.2.3. Preparación de las pencas

La limpieza implicó la eliminación de plantas enfermas, malezas, y plagas, así como la remoción de residuos de hojas y frutos utilizando equipos de limpieza como escobas o cepillos y equipos de protección personal. Este enfoque proactivo no solo contribuyó a

mantener la salud de las plantas, sino que también previno la atracción de insectos y la propagación de enfermedades (Aquino, 2016)

Fue fundamental realizar una inspección minuciosa de las plantas con el objetivo de identificar posibles plagas o enfermedades, además de llevar a cabo la limpieza de residuos orgánicos, malezas y cualquier material extraño presente en las plantas de nopal acompañado de un lavado suave de las plantas para eliminar cualquier acumulación de polvo y suciedad (Guamán, 2022)

En conjunto, estas acciones reflejan un compromiso con la salud del cultivo y contribuyen a optimizar su rendimiento. Este enfoque meticuloso contribuye a mantener la salud de las plantas y a prevenir posibles problemas durante el proceso de infestación con grana cochinilla.

3.2.4. Colección de la cochinilla

En Ecuador la grana cochinilla es conocida y se ha encontrado en varias regiones del país. Sin embargo, su distribución puede variar según las condiciones climáticas y las especies de plantas hospedantes en las diferentes zonas geográficas. Estas condiciones propician un ambiente idóneo para la reproducción y desarrollo de la cochinilla, la cual se nutre de la savia de las plantas huésped. Es fundamental tener en cuenta que la prevalencia de la cochinilla experimenta variaciones estacionales y geográficas a lo largo del país (Guamán, 2022)

Se sabe que en Guayaquil existe una variedad diferente de cochinilla, llamada cochinilla algodonosa. Por esta razón, se decidió comprar la grana de cochinilla en lugares donde se había comprobado la presencia de este insecto, según iNaturalist. El resultado fue el museo

Casa Agave en la parroquia Pomasqui de Quito. Se adquirieron dos pencas con alrededor de 80 gramos de cochinilla con el objetivo de infectar otros cladodios.

Figura 9

Penca Infectada



Nota. Tomada por Pin & Rivera, 2024

3.3. Infestación de las pencas

Una vez adquiridos los insectos y que las plantas hayan alcanzado un crecimiento óptimo y cuentan con pencas de tamaño adecuado para la infestación, se inició el proceso de crianza de la grana cochinilla. Este paso crítico marcó el comienzo de una fase crucial en el desarrollo y manejo de las poblaciones, asegurando condiciones ideales para el éxito de la crianza.

Para llevar a cabo este procedimiento, se empleó un método de infestación que consistió en el uso de bolsas de gasa, las cuales se caracterizaron por mantener dimensiones de 6 x 6 cm y en donde se contuvieron hembras ovipositoras con un peso total de 1 gramo. Estas bolsas fueron adheridas a cada una de las 11 pencas con ayuda de las espinas para proporcionar soporte (Amasifuen, 2017).

Figura 10

Penca de la especie Opuntia ficus – indica infestada por el método de bolsas de gasa



Nota. Tomada por Pin & Rivera, 2024.

El período de infestación abarcó una duración de 10 días y, posteriormente las bolsitas de gasa fueron retiradas, permitiendo que las ninfas que se encontraban debajo alcanzaran su máximo desarrollo.

Figura 11

Cochinillas observadas en microscopio en etapa Ninfa migratoria



Nota. Tomada por Pin & Rivera, 2024

Figura 12

Ovisacos observados sobre la penca



Nota. Tomada por Pin & Rivera, 2024

En días posteriores, se llevó a cabo un seguimiento detallado del ciclo biológico de la cochinilla (*Dactylopius coccus*) que se determinó mediante el conteo de días transcurridos desde la fecha de infestación hasta las observaciones de las primeras hembras y machos maduros. Este enfoque metodológico preciso facilitó la obtención de datos cruciales sobre el desarrollo temporal de la población de cochinillas en estudio.

3.3.1 Desarrollo de la cochinilla

Para calcular las tablas de vida, nos basamos en la metodología usada por Méndez y otros autores en el año 2010. Según lo indicado, cada tres días tuvimos que contabilizar cuántos insectos estaban vivos en todos los grupos de insectos, hasta el momento de su muerte.

Para evaluar la tasa de reproducción/supervivencia de las hembras de *Dactylopius coccus* que alcanzaron la etapa adulta en cada cohorte, nos basamos en ciertos datos bibliográficos para obtener un porcentaje estimado con un resultado de 19%.

Para el análisis de los datos, se empleó el procedimiento ANOVA, y las diferencias entre medias fueron determinadas mediante la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

3.3.2. Cosecha de la cochinilla

La recolección de la grana cochinilla implica un procedimiento realizado mediante el raspado de los insectos del cactus, utilizando una herramienta afilada o mediante técnicas de cepillado. Este proceso se lleva a cabo 15 días después de que ha iniciado la oviposición y se encuentren en etapa adulta.

Consiste en separar las hembras de las pencas, utilizando una brocha con cerdas muy suaves. Esta técnica precisa y metódica asegura la obtención de granas de alta calidad, esenciales para la producción del pigmento final. La sincronización de la cosecha con el ciclo biológico de la cochinilla, junto con el uso adecuado de herramientas especializadas, contribuye a la eficacia y eficiencia del proceso de recolección (Castillo, 2014)

3.4. Extracción de ácido carmínico

La metodología para la extracción de ácido carmínico que seguida se derivó de un estudio del comportamiento solvato crómico del colorante natural de mortiño realizado por (Mora, 2023). Según lo expresado, los autores fundamentan su investigación en la obtención de un colorante natural. En consecuencia, se considera pertinente y apropiado incorporar esta metodología en nuestro propio estudio. Este procedimiento será igual en nuestras dos muestras de cochinilla control y las cochinillas productos del protocolo de crianza

3.4.1. Preparación de la cochinilla

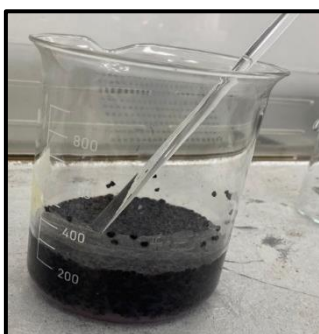
Se debe pesar 30 gr cantidad recolectada de cochinilla muerta, la cual se someterá a un proceso inicial de limpieza superficial con agua para eliminar cualquier residuo de la tuna.

3.4.2. Eliminación de la cera

Para que la grana cochinilla quede libre de la cera que la recubre, se utilizó cloroformo durante 10 min este solvente es miscible con la mayoría de los solventes orgánicos y se evapora fácilmente dando como resultado la suspensión de la mezcla (Martinez, 2015)

Figura 13

Grana cochinilla sumergidas en cloroformo



Nota. Tomada por Pin & Rivera, 2024

3.4.3. Secado y molienda

Las cochinillas deben distribuirse de manera uniforme sobre una superficie de aluminio y ser colocadas en una estufa a una temperatura de 60°C durante un periodo de 6 horas. Luego de este proceso, se procede a triturar las cochinillas utilizando un mortero generando presión sobre la cochinilla obteniendo partículas sólidas.

Figura 14

. Grana cochinilla colocada en estufa



Nota. Tomada por Pin & Rivera, 2024

Figura 15.

Trituración en mortero



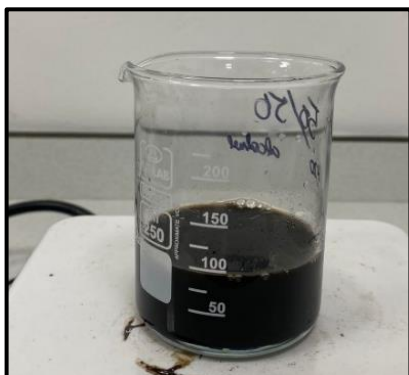
Nota. Tomada por Pin & Rivera, 2024

3.4.4. Extracción

Preparar solución acuosa de cloruro de calcio en un volumen 1/1 (v/v) de agua alcohol pesar 30 gr de grana cochinilla seca y desengrasada, se procede a la homogenización en una plancha calentadora con la ayuda de agitador magnético mantener una agitación moderada. La solución que debe mantenerse a 45 ° C durante 8 min.

Figura 16

Homogenización de la mezcla



Nota. Tomada por Pin & Rivera, 2024

3.4.5. Filtración y purificación

Luego de la extracción, se procede a filtrar con la ayuda de un embudo y papel filtro agregando poco a poco la mezcla. Este proceso es lento, para realizar la suspensión del sobrenadante y obtener el sólido de cochinillas se procede a centrifugar esta solución a 3000 rpm durante 10 min, donde se retira el sobrenadante es colocado sobre papel filtro y llevado a una estufa durante 6 horas a 60°C.

Figura 17.

Centrifugación de la muestra



Nota. Tomada por Pin y Rivera, 2024

3.4.6. Secado

El secado en la estufa fue a 60° durante 8 horas es un paso muy importante luego de la purificación del cual podremos obtener un polvo que nos servirá como un colorante soluble en cualquier solvente.

3.5. Análisis de absorbancia

Para este análisis se toma como referencia la metodología utilizada por Gabriela et al. en el año 2021 utilizando la espectrometría técnica que nos ayuda a medir la absorbancia de longitud de onda única, y según la bibliografía revisada por Ocampo (2019) afirma lo siguiente: “el ácido carmínico cambia su color según el valor del pH. Es naranja a pH 3, rojo a pH 5 y azul rojizo a pH 7”. Tiene un valor máximo de 500 nm en H₂O, 490-500 nm en HCl 0,02 N. Teniendo en cuenta lo antes mencionado haremos un rango de 450nm hasta 500nm..

3.5.1. Metodología de espectrometría UV-VIS para ácido carmínico

Nuestra metodología fue adaptada al estudio de (Llangari, 2023) utilizando el espectrofotómetro UV-VIS DR6000 , Este proceso incluyó el pesaje de 0.025 de nuestras muestras de grana cochinilla, tanto el control como la de crianza. Posteriormente, en un tubo de ensayo, se mezcló la solución ácida con el soluto de AC, llevándolo a un baño maría a 60°C durante 10 minutos. Después de este paso, se procedió a enfriar la mezcla y eliminar los residuos mediante papel filtro. Para culminar, se agregaron 2 microlitros (2 µL) de esta solución en celdas de cuarzo para el análisis en cada corrida.

Figura 18

Muestra en baño María y Filtración



Nota. Tomada por Pin & Rivera, 2024

3.6. Análisis del comportamiento solvato crómico

Según (Mora, 2023) en su artículo detalla la metodología del comportamiento solvato crómico de un colorante extraído de origen natural, dicha metodología fue adaptada a nuestro estudio teniendo en cuenta los diferentes tipos de purificación empleados.

3.6.1. Estabilización

Se realizó una solución de concentración de 60 % de alcohol al 99.9 % en 250ml de agua tipo 1 junto a la concentración del extracto al 5% y purificado de grana cochinilla que fue estabilizado con goma xanthan.

3.6.2. Solvatocromismo

Inicia el procedimiento preparando soluciones HCl con un pH de 4 y KOH con un pH de 6. El extracto de ácido carmínico será evaluado en cada solvente elegido. A continuación, registra el espectro UV-Vis de la solución de ácido carmínico en uno de los solventes para establecer una referencia.

Luego, examina detenidamente los espectros registrados y observa cómo varía la posición de la banda de absorción máxima (longitud de onda máxima) en relación con el solvente. Para asegurar la validez de los resultados, realiza cuatro corridas por cada pH en el estudio

Figura 19

Espectrometría comportamiento solvato crómico (HCl Ph=4)



Nota. El espectrofotómetro UV-VIS registra las longitudes de onda mediante una gráfica donde se registra absorción y cuantifica la absorción. Se utiliza un blanco de agua tipo 1 la lectura deber efectuarse en celdas de cuarzo. Elaborado por Pin & Rivera, 2024

Figura 20.

Espectrometría de comportamiento solvato crómico (KOH pH=6)



Nota. Al igual que en la figura 19, se realizó el mismo procedimiento, obteniendo los mismos resultados esperados. Elaborado por Pin & Rivera, 2024.

3.7 Análisis FTIR

El procedimiento FTIR se ejecutó en el equipo Nicolet ist10 en un rango de absorbancia de 400-4000 cm^{-1} con corrección ATR marca Thermo Scientific, y accesorio ATR “Smart iTx” con diamant, se analizaron dos soluciones; la primera un ácido carmínico comercial con una concentración al 5% y la segunda solución es la extracción del ácido carmínico de las cochinillas de crianza. Se comparan las zonas donde se registran los espectros, para esto se examinó estudios previos así como en (*Carminic Acid(1260-17-9) IR Spectrum*, 2017).

CAPÍTULO 4

Resultados y discusión

4.1. Crianza de cochinilla

4.1.1. Mantenimiento y monitoreo de las pencas

Uno de los aspectos clave en el protocolo de crianza de *Dactylopius coccus* fue la selección de tres especies de plantas hospederas adecuadas pues primero y como se menciona dentro del boletín de la revista Biodiversidad en el año 2001, había registros de la existencia de producciones exitosas de grana cochinilla gracias a la especie, y además gracias a esta información, pudimos inferir que sin duda alguna otra especie parte de la familia *Cactaceae* sería también un adecuado hábitat para *D. coccus*.

La crianza de la cochinilla tradicionalmente se ha centrado en el uso de especies de *Opuntia* como plantas hospederas. Sin embargo, en este estudio, se exploró el potencial de *Brasiliopuntia brasiliensis* como una alternativa viable, y aunque no existían referencias previas sobre el uso de esta planta para la crianza de cochinilla, se obtuvieron resultados prometedores que sugieren su eficacia como hospedera para *D. coccus*.

Las tomas de clorofila (Chl), nitrógeno (N), humedad y temperatura se realizaron con el fin de obtener información acerca del estado nutricional en el que se encontraron las plantas hospederas y optimizar sus condiciones de crecimiento, lo que estuvo influyendo tanto en calidad como en cantidad productiva del pigmento natural a extraer.

Se calculó la desviación estándar, análisis ANOVA y curvas de crecimiento para cada variable.

En primer lugar, realizamos mediciones de distintas variables importantes dentro del crecimiento de las pencas, factor vital también para el crecimiento de las cochinillas. Según (Maki, y otros, 2015) el rango de valores de las variables de Chl, N, humedad y temperatura son los siguientes:

Clorofila: 5 – 80 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

Nitrógeno: 8 – 57 mg/g

Humedad: 50 – 70%HR

Temperatura: 20 – 26°C

Tabla 3

Parámetros de crecimiento de Opuntia ficus – indica para la crianza de la grana cochinilla

<i>Opuntia ficus – indica</i>									
	Penca 1			Penca 2			Penca 3		
Variabes	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Chl $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	44.9	20.8	21.5	5.3	8.9	13.5	38.6	16.3	26.3
N mg/g	16.9	9.2	9.4	4.3	4.3	6.9	14.9	7.8	11
Humedad	67.6	36.8	37.6	17.2	21.6	27.6	59.6	31.2	44
%RH									
Temperatura	19.6	19.87	20.06	20	20.2	20.18	20.25	20.25	20.31
°C									

Nota. La tabla muestra los datos obtenidos a través de las tomas realizadas de cada variable ambiental. Elaborado por Pin & Rivera, 2024.

Primero, calculamos la **media de Chl** para cada penca con la siguiente fórmula:

Ecuación 1. Determinación de media de las tomas

$$\text{Media} = \frac{T1 + T2 + T3}{\text{Número total de tomas}}$$

Nota. Adaptado por Pin & Rivera, 2024

Para la penca 1:

$$\text{Media} = \frac{(44.9 + 20.8 + 21.5)}{3} = 29.06 \mu\text{g}/\text{cm}^2$$

Para la penca 2:

$$\text{Media} = \frac{(5.3 + 8.9 + 13.5)}{3} = 9.23 \mu\text{g}/\text{cm}^2$$

Para la penca 3:

$$\text{Media} = \frac{(38.6 + 16.3 + 26.3)}{3} = 27.06 \mu\text{g}/\text{cm}^2$$

Y la desviación estándar fue calculada con la herramienta de Excel DESVEST.P pues esta es correcta para el cálculo dentro de una población.

Desviación estándar =8.92

Asimismo, tuvimos que calcular de las otras variables obteniendo:

Media N

Para la penca 1:

$$\text{Media} = \frac{(16.9 + 9.2 + 9.4)}{3} = 11.83 \text{ mg}/\text{g}$$

Para la penca 2:

$$\text{Media} = \frac{(4.3 + 4.3 + 6.9)}{3} = 5.16 \text{ mg/g}$$

Para la penca 3:

$$\text{Media} = \frac{(14.9 + 7.8 + 11)}{3} = 11.23 \text{ mg/g}$$

Desviación estándar = 7.62

Media Humedad

Para la penca 1:

$$\text{Media} = \frac{(67.6 + 36.8 + 37.6)}{3} = 47.33\%HR$$

Para la penca 2:

$$\text{Media} = \frac{(17.2 + 21.6 + 27.6)}{3} = 22.13 \%HR$$

Para la penca 3:

$$\text{Media} = \frac{(59.6 + 31.2 + 44)}{3} = 44.93 \%HR$$

Desviación estándar = 11.61

Media Temperatura

Para la penca 1:

$$\text{Media} = \frac{(19.6 + 19.87 + 20.06)}{3} = 19.51 \text{ }^{\circ}\text{C}$$

Para la penca 2:

$$\text{Media} = \frac{(20 + 20.2 + 20.18)}{3} = 20.12 \text{ }^{\circ}\text{C}$$

Para la penca 3:

$$\text{Media} = \frac{(20.25 + 20.25 + 20.31)}{3} = 20.27 \text{ }^{\circ}\text{C}$$

Desviación estándar = 18.54

Tabla 4

Parámetros de crecimiento de Opuntia ficus – indica ornamental para la crianza de la grana cochinilla

<i>Opuntia ficus – indica ornamental</i>									
	Penca 1			Penca 2			Penca 3		
VARIABLES	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Chl $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	11.2	35.23	15.5	15.7	27.0	27.1	39.6	18.7	18.7
N mg/g	6.2	13.8	7.5	7.6	11.2	11.2	15.2	8.6	8.6
Humedad	24.8	29.22	30	30.4	44.8	44.8	60.8	34.4	34.4
%HR									
Temperatura	19.43	19.21	19.31	19.5	19.43	19.50	19.56	19.50	19.50
$^{\circ}\text{C}$									

Nota. La tabla muestra los datos obtenidos a través de las tomas realizadas de cada variable ambiental. Elaborado por Pin & Rivera, 2024.

Media Chl

Para la penca 1:

$$\text{Media} = \frac{(11.2 + 35.23 + 15.5)}{3} = 20.64 \mu\text{g}/\text{cm}^2$$

Para la penca 2:

$$\text{Media} = \frac{(15.7 + 27.0 + 27.1)}{3} = 23.26 \mu\text{g}/\text{cm}^2$$

Para la penca 3:

$$\text{Media} = \frac{(39.6 + 18.7 + 18.7)}{3} = 25.66 \mu\text{g}/\text{cm}^2$$

Desviación estándar = 2.05

Media N

Para la penca 1:

$$\text{Media} = \frac{(6.2 + 13.8 + 7.5)}{3} = 9.16 \text{ mg}/\text{g}$$

Para la penca 2:

$$\text{Media} = \frac{(7.6 + 11.2 + 11.2)}{3} = 10 \text{ mg}/\text{g}$$

Para la penca 3:

$$\text{Media} = \frac{(15.2 + 8.6 + 8.6)}{3} = 10.8 \text{ mg}/\text{g}$$

Desviación estándar = 0.67

Media Humedad

Para la penca 1:

$$\text{Media} = \frac{(24.8 + 29.22 + 30)}{3} = 28\%HR$$

Para la penca 2:

$$\text{Media} = \frac{(30.4 + 44.8 + 44.8)}{3} = 40\%HR$$

Para la penca 3:

$$\text{Media} = \frac{(60.8 + 34.4 + 34.4)}{3} = 43.2\%HR$$

Desviación estándar = 12.44

Media Temperatura

Para la penca 1:

$$\text{Media} = \frac{(19.43 + 19.21 + 19.31)}{3} = 19.31\text{ }^{\circ}\text{C}$$

Para la penca 2:

$$\text{Media} = \frac{(19.5 + 19.43 + 19.50)}{3} = 19.47\text{ }^{\circ}\text{C}$$

Para la penca 3:

$$\text{Media} = \frac{(19.56 + 19.50 + 19.50)}{3} = 19.52\text{ }^{\circ}\text{C}$$

Desviación estándar = 0.08

Tabla 5

Parámetros de crecimiento de Brasiliopuntia brasiliensis para la crianza de la grana cochinilla

<i>Brasiliopuntia brasiliensis</i>									
	Penca 1			Penca 2			Penca 3		
VARIABLES	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Chl $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	18.3	5.25	9.85	53.9	51.5	49.6	47.7	42.6	37.5
N mg/g	8.4	4.5	5.7	19.7	18.8	18.4	16.8	16.1	14.4
Humedad	33.6	18	22.8	78.8	72.2	73.6	67.2	64.4	53.6
%HR									
Temperatura	22.06	21.50	20.75	20.56	20.43	20.31	20.18	20	19.93
$^{\circ}\text{C}$									

Nota. La tabla muestra los datos obtenidos a través de las tomas realizadas de cada variable ambiental. Elaborado por Pin & Rivera, 2024.

Media Chl

Para la penca 1:

$$\text{Media} = \frac{(18.3 + 5.25 + 9.85)}{3} = 11.13 \mu\text{g}/\text{cm}^2$$

Para la penca 2:

$$\text{Media} = \frac{(53.9 + 51.5 + 49.6)}{3} = 51.66 \mu\text{g}/\text{cm}^2$$

Para la penca 3:

$$\text{Media} = \frac{(47.7 + 42.6 + 37.5)}{3} = 42.6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$$

Desviación estándar = 17.36

Media N

Para la penca 1:

$$\text{Media} = \frac{(8.4 + 4.5 + 5.7)}{3} = 6.2 \text{ mg}/\text{g}$$

Para la penca 2:

$$\text{Media} = \frac{(19.7 + 18.8 + 18.4)}{3} = 18.96 \text{ mg}/\text{g}$$

Para la penca 3:

$$\text{Media} = \frac{(16.8 + 16.1 + 14.4)}{3} = 15.76 \text{ mg}/\text{g}$$

Desviación estándar = 5.42

Media Humedad

Para la penca 1:

$$\text{Media} = \frac{(33.6 + 18 + 22.8)}{3} = 24.8 \%HR$$

Para la penca 2:

$$\text{Media} = \frac{(78.8 + 72.2 + 73.6)}{3} = 74.86 \%HR$$

Para la penca 3:

$$\text{Media} = \frac{(67.2 + 64.4 + 53.6)}{3} = 61.73 \%HR$$

Desviación estándar = 21.19

Media Temperatura

Para la penca 1:

$$\text{Media} = \frac{(22.06 + 21.50 + 20.75)}{3} = 21.43 ^\circ C$$

Para la penca 2:

$$\text{Media} = \frac{(20.56 + 20.43 + 20.31)}{3} = 20.43 ^\circ C$$

Para la penca 3:

$$\text{Media} = \frac{(20.18 + 20 + 19.93)}{3} = 20.03 ^\circ C$$

Desviación estándar = 0.58

Figura 21

Método usado para realizar el ANOVA

Método	
Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia $\alpha = 0,05$	
<i>Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.</i>	

Nota. Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis. Elaborado por Pin & Rivera, 2024.

Figura 22

ANOVA de las variables ambientales de las 3 especies hospederas

Análisis de Varianza					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	3	1643,0	547,67	14,48	0,001
Error	8	302,7	37,83		
Total	11	1945,7			

Nota. Elaborado por Pin & Rivera, 2024.

El valor p presentado por el ANOVA es menor que 0.05, lo cual indica que los resultados de las variables de Chl ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$), N (mg/g), humedad (%HR) y temperatura ($^{\circ}\text{C}$) difieren de manera significativa.

Para tener otro análisis que defienda esto realizamos el método Tukey; es una herramienta más precisa en términos de conocer los efectos de las variables sobre el crecimiento tal y como se muestra en la siguiente gráfica

Figura 23

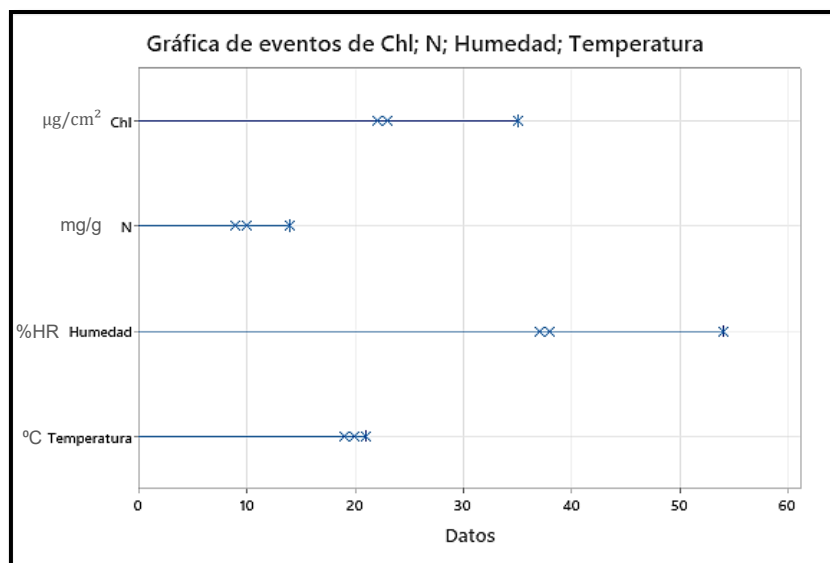
Comparaciones en parejas de Tukey con confianza de 95%

	<u>Factor</u>	<u>N</u>	<u>Media</u>	<u>Agrupación</u>
%HR	Humedad	3	43,00	A
$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	Chl	3	26,67	B
$^{\circ}\text{C}$	Temperatura	3	20,00	B
mg/g	N	3	11,00	B

Nota. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes. Elaborado por Pin & Rivera, 2024.

Figura 24.

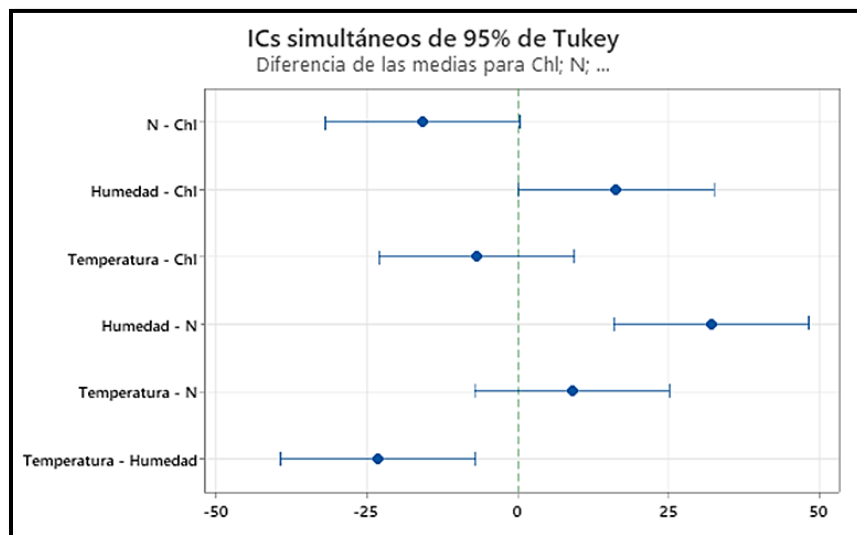
Comparaciones en parejas de Tukey con confianza de 95%



Nota. Si un intervalo no contiene cero, las medias correspondientes son significativamente correspondientes. Elaborado por Pin & Rivera, 2024.

Figura 25

Diferencias de variables Chl, N, humedad y temperatura



Nota. Elaborado por Pin & Rivera, 2024.

4.1.2. Supervivencia y reproducción de *D. coccus*

Decidimos emplear la técnica de muestreo por cuadrantes para calcular la cantidad total de insectos que serán usados para la infestación. Para llevar a cabo esta técnica, es necesario recopilar ciertos datos iniciales, como la densidad de las cochinillas en cada cuadrante, el número total de insectos en cada cuadrante y en total, así como el área de cada uno de los cuadrantes.

Considerando que partimos el proyecto con dos pencas ya infestadas para luego colocar cierta cantidad en las otras, estas las consideraremos como el punto inicial desde el cual se recopilarán los datos necesarios para gestionar y monitorizar la infestación de insectos.

Para obtener la densidad de insectos dentro de cada cuadrante de las 2 pencas se utilizará la siguiente ecuación y datos:

Ecuación 2. Densidad de insectos

$$\text{Densidad de insectos} = \frac{\text{Número total de insectos contados}}{\text{Área total muestreada}}$$

Nota. Adaptado por Pin & Rivera, 2024.

Penca #1

Parte delantera

Primer cuadrante

Longitud = 15 cm

Ancho = 10 cm

Área = 150 cm²

$$\text{Densidad de insectos} = \frac{114}{150} = 0.76 \text{ cm}^2$$

Segundo cuadrante

$$\text{Densidad de insectos} = \frac{209}{150} = 1.39 \text{ cm}^2$$

Tercer cuadrante

$$\text{Densidad de insectos} = \frac{180}{150} = 1.2 \text{ cm}^2$$

Cuarto cuadrante

$$\text{Densidad de insectos} = \frac{140}{150} = 0.93 \text{ cm}^2$$

Parte trasera

Primer cuadrante

$$\text{Densidad de insectos} = \frac{150}{150} = 1 \text{ cm}^2$$

Segundo cuadrante

$$\text{Densidad de insectos} = \frac{220}{150} = 1.47 \text{ cm}^2$$

Tercer cuadrante

$$\text{Densidad de insectos} = \frac{130}{150} = 0.87 \text{ cm}^2$$

Cuarto cuadrante

$$\text{Densidad de insectos} = \frac{110}{150} = 0.73 \text{ cm}^2$$

Penca #2

Parte delantera

Primer cuadrante

Longitud = 15 cm

Ancho = 12 cm

Área = 180 cm²

$$\text{Densidad de insectos} = \frac{12}{180} = 0.07 \text{ cm}^2$$

Segundo cuadrante

$$\text{Densidad de insectos} = \frac{20}{180} = 0.11 \text{ cm}^2$$

Tercer cuadrante

$$\text{Densidad de insectos} = \frac{60}{180} = 0.33 \text{ cm}^2$$

Cuarto cuadrante

$$\text{Densidad de insectos} = \frac{33}{180} = 0.18 \text{ cm}^2$$

Parte trasera

Primer cuadrante

$$\text{Densidad de insectos} = \frac{73}{180} = 0.41 \text{ cm}^2$$

Segundo cuadrante

$$\text{Densidad de insectos} = \frac{8}{180} = 0.04 \text{ cm}^2$$

Tercer cuadrante

$$\text{Densidad de insectos} = \frac{3}{180} = 0.02 \text{ cm}^2$$

Cuarto cuadrante

$$\text{Densidad de insectos} = \frac{51}{180} = 0.28 \text{ cm}^2$$

Contamos las cochinillas de cada cuadrante (parte trasera y delantera) de las dos pencas y al agregar todos los datos recopilados, logramos determinar la cantidad inicial de 1513 insectos que se encontraban en las plantas.

Por cuadrante se encontraron:

Ecuación 3. Determinación de la cantidad de insectos por cuadrante

$$\text{Cantidad de insectos por cm}^2 = \frac{\text{Población inicial} \times \text{Densidad}}{\text{No. de cuadrantes}} \text{cm}^2$$

Nota. Adaptado por Pin & Rivera, 2024.

Primera penca

$$\text{Cantidad de insectos por cm}^2 = \frac{1513 \times 150}{4} = 57 \text{ cm}^2$$

Segunda penca

$$\text{Cantidad de insectos por cm}^2 = \frac{1513 \times 180}{4} = 68 \text{ cm}^2$$

Se encontró alrededor de 57 insectos por cuadrantes dentro de la penca y 68 insectos en la segunda penca. Hay que considerar que los cuadrantes considerados fueron tanto de la parte trasera como de la delantera de las dos pencas estudiadas.

Para estimar la cantidad de cochinillas que se reproducen, se generó una tabla de vida detallada con una visión amplia de varios aspectos relacionados con su ciclo vital. Esta tabla

ha sido diseñada para proporcionar información detallada sobre las variables clave que influyen en la reproducción de las cochinillas.

Al consultar esta tabla, es posible obtener datos precisos sobre la tasa de reproducción, el número de individuos nuevos generados en un período determinado y otros parámetros relevantes. Mediante el análisis de estas variables, se puede entender mejor la dinámica poblacional de las cochinillas y su capacidad para proliferar en un entorno dado.

Las tablas de vida proporcionan una representación detallada de la dinámica de la población de cochinilla, mostrando la reproducción y la mortalidad a lo largo del tiempo. La tasa de reproducción muestra el porcentaje de crecimiento de la población durante un período de tiempo, mientras que la tasa de mortalidad muestra la proporción de individuos muertos en la población total. Estos datos son esenciales para comprender cómo el tamaño y la estructura de la población de cochinilla cambian con el tiempo, pues puede haber implicaciones significativas para los ecosistemas en los que viven y las estrategias de control de plagas.

Tabla 6

. Tabla de vida de la cochinilla (Dactylopius coccus) con su distribución de supervivencia a lo largo del tiempo

Día	Tasa de Supervivencia (%)	Población
0	19	1513
2	19	1800

5	19	2143
9	19	2550
12	19	3034
14	19	3611
16	19	4297
19	19	5113
21	19	6084
24	19	7240
26	19	8616
28	19	10253
30	19	12201
33	19	14519
35	19	17278
37	19	20561
40	19	24468

Nota. Elaborado por Pin & Rivera, 2024.

Los datos presentados en esta tabla representan la distribución de supervivencia de la grana cochinilla durante un período de 40 días. Cada entrada de la tabla representa la cantidad de cochinillas que vivieron o durante un intervalo de tiempo determinado, esto nos proporcionó una imagen detallada de la dinámica poblacional a lo largo del estudio.

La tasa de supervivencia se determinó mediante un estudio que investigó la crianza en cinco entornos de oscuridad diferentes. En este estudio, se encontró que cuando las cochinillas fueron criadas en un ambiente de 14 horas de oscuridad, su supervivencia

aumentó en un 31%, pero este porcentaje disminuyó al 10% cuando se incrementó la oscuridad a 16 horas. Además, se observó una tasa de supervivencia del 15% en completa oscuridad (L. A. Tarango-Arámbula, 2014)

Comparativamente, investigaciones previas informaron tasas de supervivencia más altas para otras especies de insectos escamosos en distintas condiciones de oscuridad. Por ejemplo, en un artículo se observó una tasa de supervivencia del 41% para *O. ficus-indica* con 12 horas de oscuridad y del 40% con 16 horas de oscuridad. También se han registrado tasas de supervivencia de cactus de hasta el 66% (L. A. Tarango-Arámbula, 2014)

Estos datos se utilizaron para establecer un valor de supervivencia único, el cual refleja la eficacia de supervivencia de las cochinillas en diferentes condiciones de luz y oscuridad. La definición de una relación única que represente la supervivencia de *D. coccus* en el compartimento del ánodo bajo diversas condiciones de oscuridad permite calcular una tasa de supervivencia media simple para cada situación.

Esto generó una tarifa promedio de 19% que ponderó todas las condiciones de manera equitativa, sin importar el número de individuos en cada una tal y como se presenta en la siguiente fórmula.

Ecuación 4. Tasa promedio de supervivencia de la cochinilla

$$\mathbf{Tasa\ promedio} = \frac{\mathbf{Tasa\ 1 + Tasa\ 2 + Tasa\ 3}}{\mathbf{3}}$$

Nota. Adaptado por Pin & Rivera, 2024.

$$\mathbf{Tasa\ promedio} = \frac{\mathbf{31 + 10 + 15}}{\mathbf{3}}$$

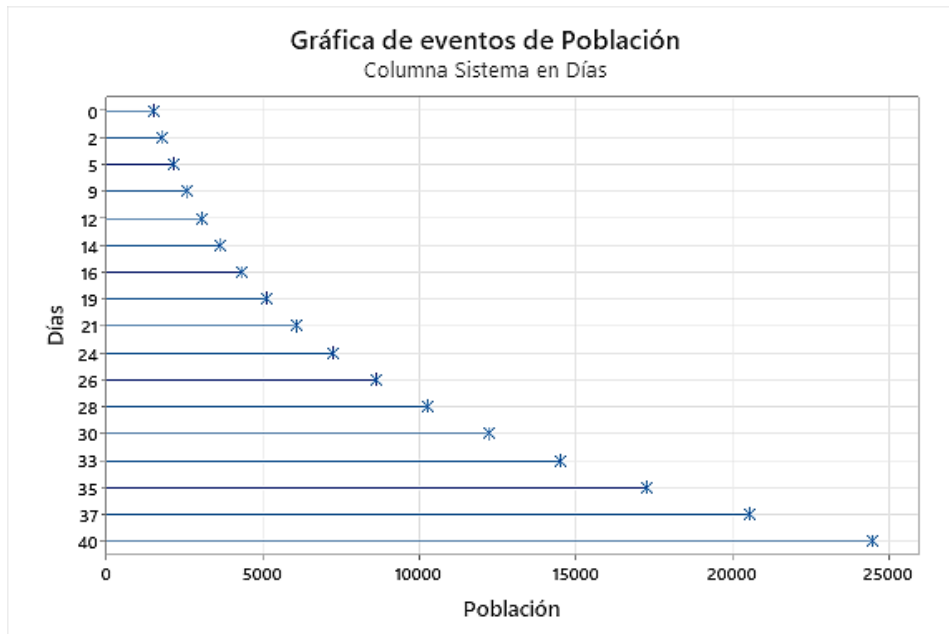
$$Tasa\ promedio = \frac{56}{3} = 19\%$$

Para poder observar de mejor manera el crecimiento poblacional, se procedió a graficar el aumento evidente a través del uso del programa Minitab y el análisis realizado fue de un sistema reparable. La razón por la que se usó este tipo de prueba fue porque al final de los 40 días, se pueden hacer supuestos sobre la cantidad de cochinillas producidas.

Se empleó un modelo de ley de potencia para generar este gráfico, el cual se utiliza en la representación los intervalos de tiempo entre fallas/reparaciones, pudiendo variar en su tasa de ocurrencia, ya sea aumentando, disminuyendo o manteniéndose constante.

Figuras 26

Curva de crecimiento de la crianza de la cochinilla con relación al tiempo sobre el total de individuos



Nota. Curva de crecimiento que muestra el aumento de la población de cochinillas con respecto al tiempo de 40 días. Elaborado por Pin & Rivera, 2024.

Figuras 27

Cálculos del parámetro de población

Parámetro	Estimación estándar	Error IC normal de 95%	
		Inferior	Superior
Forma	1,29846	0,246	0,896317 1,88102
Escala	9297,83	1828,646	6323,71 13670,7

Nota. Elaborado por Pin & Rivera, 2024.

La estimación de la forma fue de 1,29846 según la figura 27, que está cerca de 1, esto indica la tendencia de cómo los componentes dentro de este protocolo fallan durante el tiempo de crianza lo cual es normal pues este fue un proyecto experimental.

Varios estudios sobre la biología y el comportamiento de la cochinilla han dado como resultado estimaciones cuantitativas del porcentaje de tasa de reproducción. Estos estudios proporcionaron información importante sobre el desempeño reproductivo de las cochinillas, incluido su ciclo de vida, hábitos reproductivos y factores ambientales influenciados dentro de su reproducción. Por ejemplo, se ha observado que las cochinillas tienen altas tasas de reproducción y pueden reproducirse en condiciones favorables. Incluso sin datos numéricos precisos, este conocimiento permite estimar tasas de reproducción relativamente altas.

La capacidad de las cochinillas en su proceso de reproducirse ha sido estudiada y observada en el campo, esto nos ayudó a comprender cómo estas plagas prosperan en ambientes favorables. Los científicos utilizan esta información para estimar la tasa de reproducción de las poblaciones de insectos escamosos, lo que puede ayudar a comprender

mejor la dinámica de sus poblaciones y ayudar a desarrollar estrategias de control y gestión adecuadas.

Gracias a estos estudios también pudimos determinar la población final al término de cada evaluación/revisión. Por ejemplo, con respecto al día 2 se lo estableció de la siguiente manera:

$$\text{Población inicial} = 1513$$

$$\text{Tasa de supervivencia} = 19\%$$

Ecuación 5. Incremento poblacional de la cochinilla

$$\text{Incremento} = \text{Población inicial} \times \text{Tasa de supervivencia}$$

Nota. Adaptado por Pin & Rivera, 2024.

$$\text{Incremento} = 1513 \times 19\%$$

$$\text{Incremento} = 287$$

Ecuación 6. Población total de la cochinilla (toma periódica)

$$\text{Población total} = \text{Población inicial} + \text{Incremento}$$

Nota. Adaptado por Pin & Rivera, 2024

$$\text{Población total} = 1513 + 287$$

$$\text{Población total} = 1800$$

Al comprender mejor el ritmo al que se reproducen los insectos y cómo esto se relaciona con su comportamiento y biología, podemos predecir cómo evolucionarán las poblaciones con el tiempo.

Conociendo la tasa de reproducción y teniendo en cuenta otros factores como la mortalidad y las condiciones ambientales, podemos calcular el tamaño poblacional final esperado en cada punto de control. Esta información es invaluable en la investigación del control de plagas y el manejo de la población de cochinilla porque nos permite predecir y responder adecuadamente a los cambios de población a lo largo del tiempo. Con toda esa información, pudimos determinar cuánto tiempo duraba todo el proceso de vida de los insectos.

4.1.3. Análisis morfológicos de la grana cochinilla

Tabla 7

Características morfológicas de D. coccus (control y crianza)

Características	Cochinilla (control)	Cochinilla (crianza)
Forma	Ovoide	Ovoide
Largo	4 mm	4.5 mm
Ancho	3.5mm	3.5mm
Color	Rojo oscuro	Rojo oscuro

Nota. La presente tabla muestra datos comparando características morfológicas entre las cochinillas tomadas como control frente a los insectos criados. Elaborado por Pin & Rivera, 2024.

4.2. Extracción de ácido carmínico

4.2.1. Determinación de Absorbancia

Se determinó en una longitud de onda de una del extracto de ácido carmínico en una solución de HCl 2N que debe pasar por baño María enfriar al ambiente y luego aforar a 250ml en un matraz. Se depositan 2000 ul en las celdas de cuarzo de 1 cm pasando primero por el análisis del espectrofotómetro UV – VIS el blanco de agua tipo 1. Los rangos de longitud de onda estipulados fueron desde 450nm hasta 500nm con tres réplicas de cada longitud, tabla 8 y 9.

Tabla 8

Réplicas de análisis de espectrometría de cochinilla (control)

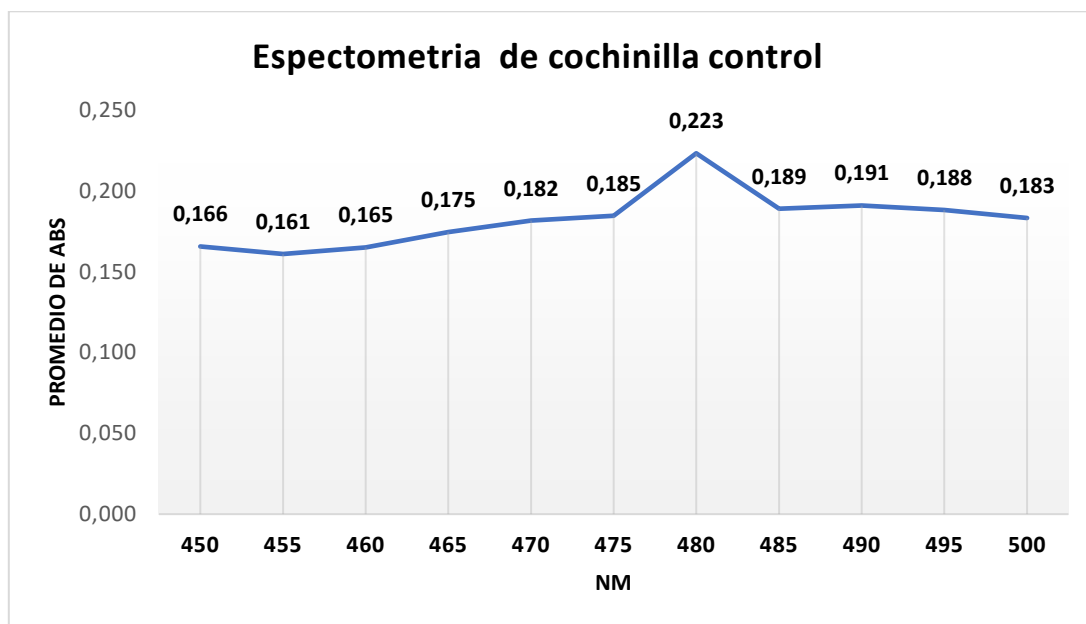
Nm	R1	R2	R3	Promedio
450	0,142	0,179	0,176	0,166
455	0,155	0,146	0,182	0,161
460	0,165	0,164	0,166	0,165
465	0,175	0,174	0,175	0,175
470	0,18	0,181	0,184	0,182
475	0,185	0,185	0,184	0,185
480	0,223	0,223	0,224	0,223
485	0,188	0,189	0,19	0,189
490	0,191	0,191	0,191	0,191

495	0,19	0,185	0,19	0,188
500	0,185	0,182	0,183	0,183

Nota. La tabla representa la cantidad de réplicas de la muestra de cochinilla control por cara Nm para obtener un promedio de absorbancia. Elaborado por Pin & Rivera, 2024.

Figura 28

Curva de rango de absorbancia de la cochinilla (control)



Nota. El grafico representa que el mayor rango de absorbancia fue en 480 nm con un promedio de absorbancia de 0,223 Elaborado por Pin & Rivera, 2024.

Tabla 9.

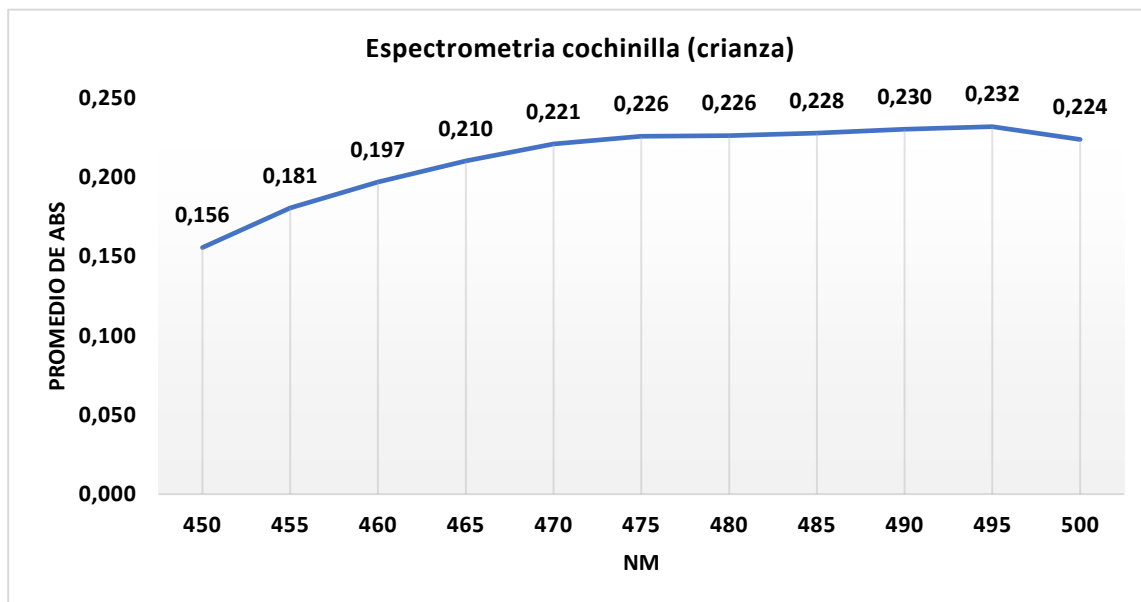
Réplicas de análisis de espectrofotometría de cochinilla (crianza)

Nm	R1	R2	R3	Promedio
450	0,146	0,161	0,16	0,156
455	0,175	0,184	0,183	0,181
460	0,199	0,198	0,194	0,197
465	0,211	0,212	0,208	0,210
470	0,221	0,221	0,221	0,221
475	0,226	0,226	0,226	0,226
480	0,229	0,228	0,222	0,226
485	0,229	0,225	0,23	0,228
490	0,23	0,23	0,231	0,230
495	0,231	0,233	0,232	0,232
500	0,223	0,224	0,225	0,224

Nota. La tabla representa la cantidad de réplicas de la muestra de cochinilla crianza por cada nm para obtener un promedio de absorbancia. Elaborado por Pin & Rivera, 2024.

Figura 29

Curva de rango de absorbancia de la cochinilla (crianza)



Nota. En grafico representa que el mayor rango de absorbancia fue en 495 nm con un promedio de absorbancia de 0,232 Elaborado por Pin & Rivera, 2024.

Para determinar el porcentaje de absorción hacemos uso de una ecuación:

Ecuación 7. % de ácido carmínico presente

$$\%AC = \frac{A * 100}{a * b * c}$$

Nota. Adaptado por Pin & Rivera, 2024.

(AC) control

$$\%AC = \frac{0.223 * 100}{13.9 * 1 * 0.1}$$

$$\%AC = 0.160$$

(AC) crianza

$$\%AC = \frac{0.232 * 100}{13.9 * 1 * 0.1}$$

$$\%AC = 0.166$$

Según las metodologías en las cual se basaron estos análisis, evidenciamos diferencias en su resultados los cuales demuestras una diferencia significativa en su nivel de absorbancia, en comparación de la muestra control y la muestra del protocolo de crianza , según el artículo de la revista Polo del Conocimiento publicado en el 2023, su valor máximo en curva de absorbancia fue en 494 nm, mientras que en nuestro análisis de curvas para cochinilla control fue en 480 nm y en las muestras de la grana cochinilla de crianza fue en 495 nm.

4.3. Comportamiento solvato crómico

En este estudio, se llevó a cabo la caracterización solvato crómica del compuesto ácido carmínico mediante espectroscopia UV-Vis en una variedad de pH. El objetivo fue investigar cómo la naturaleza del colorante a diferentes grados de acides afecta las propiedades espectrales del ácido carmínico. Según nuestra metodología en el estudio de (Mora et al., 2023) donde su colorante era de origen vegetal mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*) su longitud de onda máxima fue de 511 nm. En nuestro estudio con una muestra control de origen animal (*Dactylopius coccus*) da como resultado una absorbancia máxima de 620 nm (tabla 10 y 11) en ambas soluciones de pH deduciendo que este colorante de origen natural es estable en diferentes pH lo cual lo hace óptimo para ser utilizado es diferentes industrias en especial la alimenticia.

Tabla 10

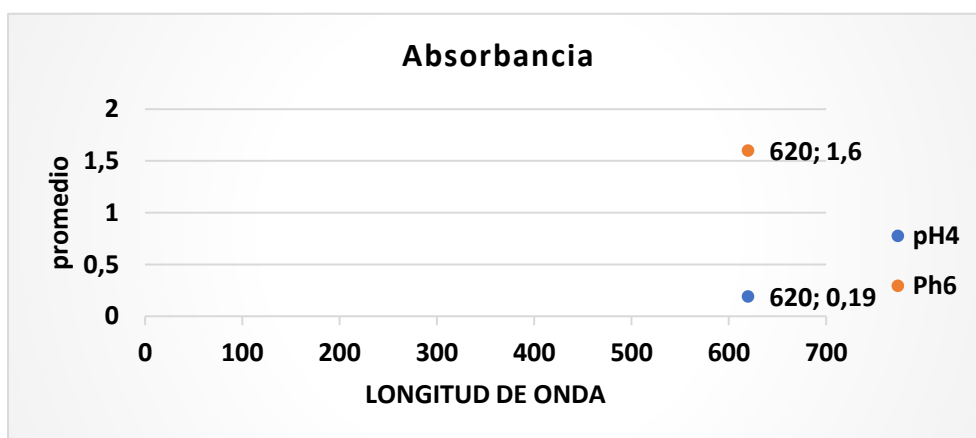
Escan. Longitud de onda cochinilla control

nm	pH 4	pH 6
620	0,206	0,500
620	0,200	0,495
620	0,196	0,492
620	0,196	0,490
Promedio	0.19	1.60

Nota. La tabla representa el escaneo de longitud de onda en las dos soluciones de por cada pH de realizaron cuatro corridas para obtener el promedio Elaborado por Pin & Rivera, 2024.

Figura 30

Curva de rango de absorbancia del comportamiento solvato crómico



Nota. La gráfica representa que el pH 6 obtuvo mayor absorbancia en comparación del pH 4 Elaborado por Pin & Rivera, 2024.

Tabla 11

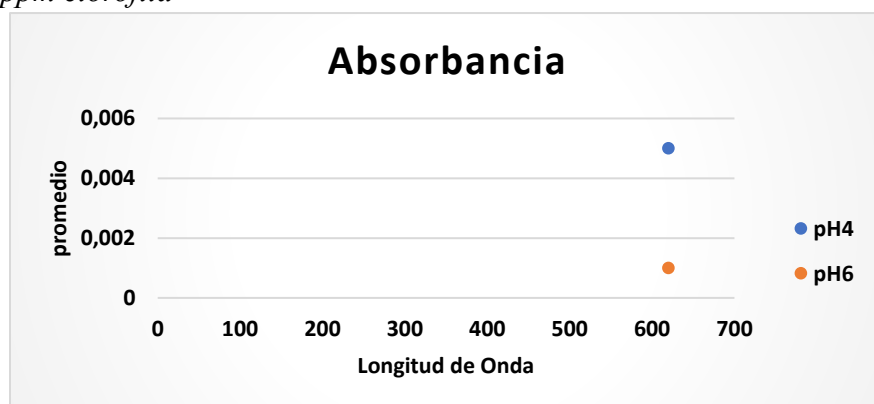
Escan. Longitud de onda muestra solución K(OH) más 1ppm clorofila

nm	pH4	pH6
620	0,004	-0.001
620	0,002	0,002
620	0,002	0,001
620	0,012	0,000
Promedio	0.005	0.001

Nota. La tabla representa el escaneo de longitud de onda en las dos soluciones de por cada pH de realizaron cuatro corridas para obtener el promedio Elaborado por Pin & Rivera, 2024.

Figura 31

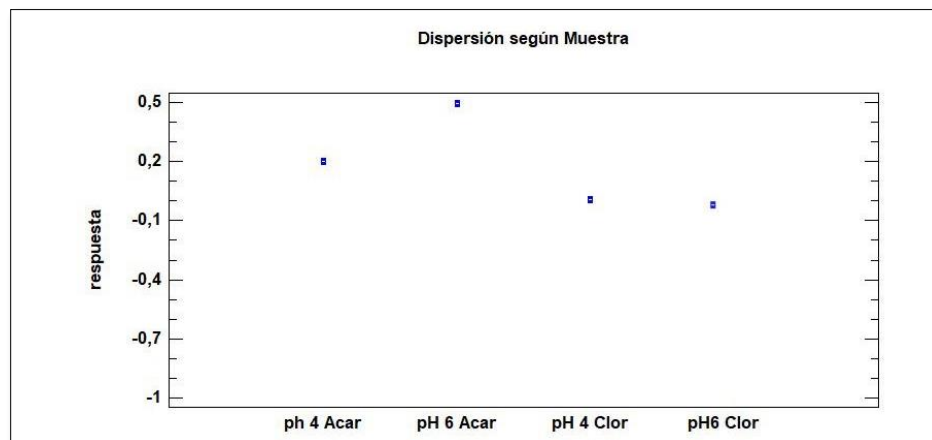
Curva de rango de absorbancia del comportamiento solvato crómico de muestra solución K(OH) más 1ppm clorofila



Nota. La gráfica representa que el pH 4 obtuvo mayor absorbancia en comparación del pH6. Elaborado por Pin & Rivera, 2024.

Figura 32

Gráfico de dispersión de longitud de onda



Nota. Elaborado por Pin & Rivera

El ácido carmínico utilizado como colorante mantuvo una longitud de onda de 620 nm fig 19 y 20 en cada solución de pH, Se utilizo el análisis de varianza ANOVA con un resultado del valor-P siendo menor que 0,05, demostrando la existencia de una diferencia estadística significativa entre las medias de las 4 variables con un nivel del 95,0% de confianza. El análisis de las cuatro variables de solución de pH mediante un gráfico de dispersión fig 31 revela una diferencia estadísticamente significativa entre las medias.

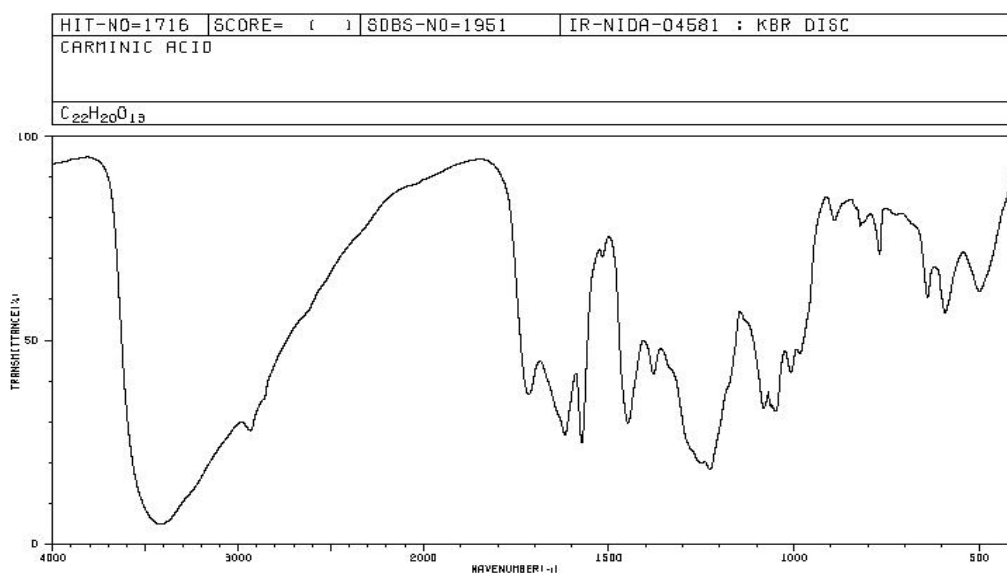
4.4. Resultados de FTIR

Se realizó un estudio comparativo de los espectros basándonos en una gráfica publicada por (Yuen, 2005). Cada espectro contiene una longitud de onda que crea un pico donde se pueden encontrar los grupos funcionales, así como se detalla en la tabla 11. En los estudios previos encontrados que el mayor rango de absorbancia fue 2000 en la Figura 34 en este límite se encuentran grupos funcionales como el nitrilo, otro de sus picos de absorbancia es en 1500 aquí podemos encontrar varios grupos funcionales, insaturados alifáticos,

aromáticos insaturados heterociclos, amidas. En las figuras 35 y 36 se muestra que el espectro de mayor absorbancia fue en la longitud 3200 en donde el ácido carmínico 5% comercial alcanza 3269.91 y el ácido carmínico extraído de las cochinillas de crianza obtuvo 3214.37 en esta región se encuentran varios posibles grupos funcionales tales como alcoholes, aldehídos, ácidos carboxílicos, aminas.

Figura 33

FTIR Carmic Acid studio

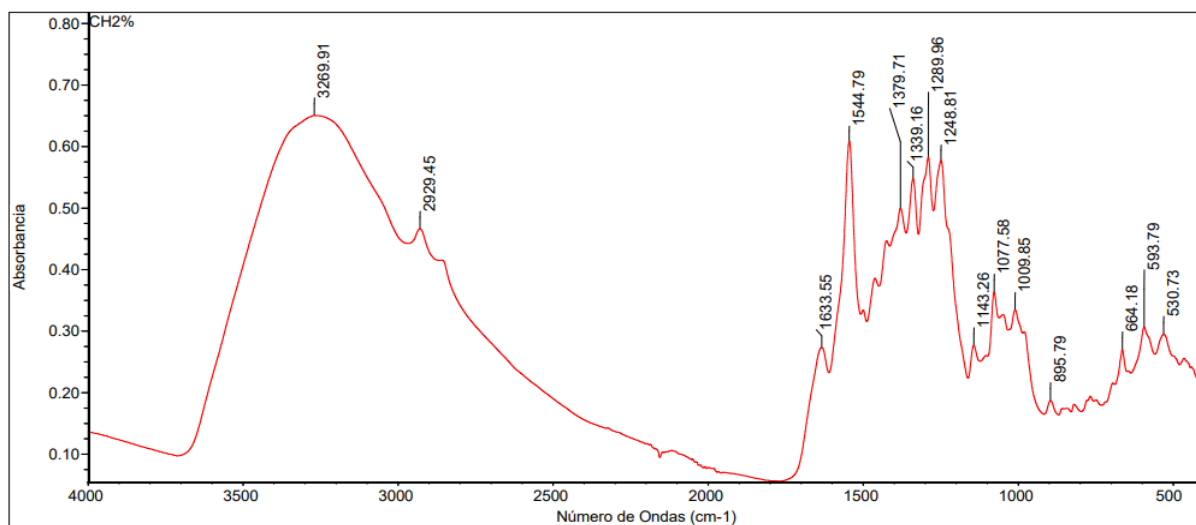


Nota. Estudio previo de FTIR de ácido carmínico, tomado de (*Carminic Acid(1260-17-9)*

IR Spectrum, 2017)

Figura 34

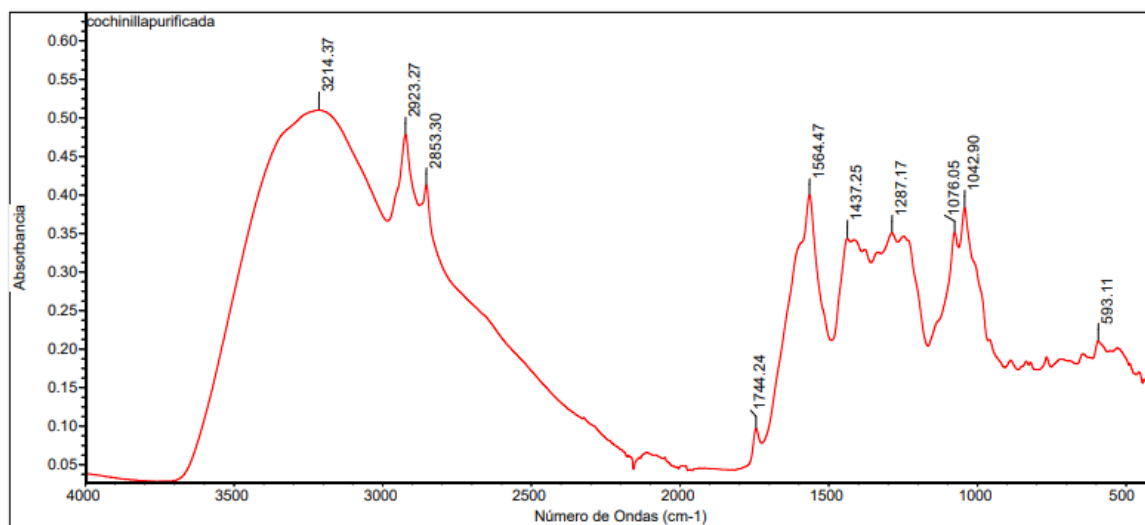
Espectro infrarrojo de Acido carmínico comercial 5%



Nota. Elaborado por Pin & Rivera, 2024.

Figura 35

Espectro infrarrojo Acido carmínico de cochinilla crianza



Nota. Elaborado por Pin & Rivera, 2024.

Tabla 12*Asignación de Números de Onda a Grupos y Posibles Compuestos*

Número de onda	Grupo	Posible compuesto
3700-3100	-OH	Alcohol
	-NH	Aldehídos
		Ácidos carboxílicos
3100 - 3000	=C-H	Compuestos aromáticos
	-CH ₂ o -CH=CH	Alquenos
		Anillos insaturados
2800-2900	-CH, -CH ₂ , -CH ₃	Grupos alifáticos

Nota. Tabla elaborada de acuerdo con los picos del FTIR. Elaborado por Pin& Rivera, 2024.

CAPÍTULO 5

Conclusiones y recomendaciones

Conclusiones.

- Un protocolo adecuado de crianza fue esencial para garantizar la calidad y consistencia del producto final. Esto implicó establecer condiciones óptimas de cultivo las cuales favorecieron el crecimiento saludable de las cochinillas con una tasa de reproducción del 19% y que, de las 1513 cochinillas principales resultaron 24468 de estos insectos, significando el aumento de la posterior producción de pigmento.
- Se encontró que la producción de cochinilla fue mayor en condiciones de oscuridad en comparación con la exposición directa a la luz, que la oscuridad favorezca la producción de cochinilla tiene implicaciones importantes para el diseño de sistemas de crianza.
- Los resultados de la extracción de ácido carmínico muestran que el porcentaje de absorbancia obtenido en el control fue de 0.160%, mientras que la extracción de ácido carmínico de la crianza resultó en un porcentaje de 0.166%. Esta diferencia sugiere que existe una variación en los niveles de ácido carmínico entre el control y la crianza.
- El valor p obtenido en la prueba de comparación indica que la probabilidad de que esta diferencia sea debida al azar es menor al 5%. Por lo tanto, podemos concluir que hay diferencias significativas entre al menos dos de las variables de solución de pH evaluadas.
- Las figuras 32 y 33 de los espectros infrarrojos demuestran un análisis cuantitativo evidenciando la presencia de grupos funcionales presentes en el ácido carmínico tales




como grupos hidroxilos y carboxílicos. Dentro de estos rangos de absorbancia, pueden existir otros posibles grupos funcionales como aldehídos, compuestos aromáticos, grupos alifáticos.

Recomendaciones





- De manera primordial se debe considerar la aclimatación y el nivel adecuado de humedad para que el protocolo de crianza tenga resultados positivos.
- Es importante tener en cuenta que cualquier fuente externa puede influir en la propagación de la plaga, por lo que es necesario mantener todas las precauciones de bioseguridad al manipular las pencas infectadas.
- Para la selección de las pencas usadas en el forraje se recomienda utilizar pencas entre 6 a 12 meses de edad en un estado limpio, sano, libres de plagas y enfermedades, considerando que su estado nutricional sea óptimo.
- Utilizar un solvente como el cloroformo que ayude a eliminar toda la cera que recubre a la grana cochinilla esto favorece a la obtención de un colorante más intenso
- Para separar las fases líquidas y sólidas durante el proceso de purificación, se recomienda utilizar el método de centrifugación o filtración.
- Las soluciones preparadas previo a cada análisis deben ser rotuladas con la identificación de cada tesista, fecha y tutor.
- Durante los procesos donde se utilice el espectrofotómetro UV-VIS se debe utilizar las celdas de cuarzo de 1cm, estas deben estar limpias y secas, de igual

manera luego de cada lectura se deben limpiar con agua tipo 1. Una vez finalizado el trabajo realizar una desinfección con agua tipo 1 y alcohol al 99%.

ANEXOS

IMAGEN	NOMBRE	UTILIDAD
	Termohigrómetro	Controlar temperatura y humedad
	gasa	Creación de bolsas para la propagación
	Tijera	Cortar gasas

	<p>Estufa</p>	<p>Secado de cochinilla y extracto</p>
	<p>Estereoscopio Leica SA8PO</p>	<p>Toma de fotos de la grana cochinilla</p>
	<p>Potenciómetro</p>	<p>Medidor de pH</p>
	<p>Espectrofotómetro UV-VIS</p>	<p>Medidor de ABS y longitud de onda</p>

	<p>Balanza analítica</p>	<p>Pesar solutos a utilizar</p>
	<p>Vasos de precipitación</p>	<p>Medición de solventes</p>
	<p>Matraz</p>	<p>Trituración</p>
	<p>Agitadores magnéticos</p>	<p>Utilizados en la homogenización</p>

	<p>Agitador de vidrio</p>	<p>Utilizado para mezcla de solventes</p>
	<p>Tubos cubos</p>	<p>Usados para la centrifugación</p>
	<p>Caja plástica</p>	<p>Para guardar materiales</p>

Referencias bibliográficas

1. A. Ponce-Luna, E. Pérez-Escalante, García-Curiel, L., Aldahir Alberto Hernández-Hernández, Contreras-López, E., & Jesús Guadalupe Pérez-Flores. (2023). Potencial del nopal (*Opuntia ficus-indica*) para su incursión en la industria de la confitería: Una breve revisión. *Investigación Y Desarrollo En Ciencia Y Tecnología de Alimentos*, 8(1), 491–500. <https://doi.org/10.29105/idcyta.v8i1.66>
2. Agraria.pe. (2022). *Envíos de cochinilla y derivados alcanzaron 1.985.549 kilos por US\$ 91.950.078, mostrando un alza de 20.64 % en volumen y 18.66% en valor.* Agraria.pe Agencia Agraria de Noticias. <https://agraria.pe/noticias/envios-de-cochinilla-y-derivados-alcanzaron-1-985-549-kilos--27190#:~:text=Explic%C3%B3%20que%20las%20exportaciones%20de,%24%202.897.296%20del%202020>.
3. Ale, R., Olives, E., Martín, A., Martín, L., Castillo, D., Agnese, B., Ortega, A., Núñez-Montoya, & Cabrera. (2018). Study of the solvatochromic effect on natural phenolic compounds. 43, 1–2. <https://www.ugr.es/~ars/abstract/43-57-02.pdf>
4. Antonio, T.-A. L., Carnero, A., Tiberi, R., & Díaz-Gómez, O. (2009). Crecimiento poblacional de la cochinilla *Dactylopius coccus* Costa criada en cinco cultivares de nopal *Opuntia ficus-indica* Mill. *Agrociencia*, 44(2), 225–234. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952010000200011
5. Aquino, G. (2016). Producción de grana cochinilla.
6. Bahena, L. (2023, August 25). En busca de colorantes naturales y de etiqueta limpia - THE FOOD TECH - Medio de noticias líder en la Industria de Alimentos y Bebidas.

THE FOOD TECH - Medio de Noticias Líder En La Industria de Alimentos Y Bebidas. <https://thefoodtech.com/ingredientes-y-aditivos-alimentarios/en-busca-de-colorantes-naturales-y-de-etiqueta-limpia/>

7. Barreda, D. (2020). Mejora de procesos en la producción de cochinilla para incrementar la productividad de la empresa agroexportadora carmín S.R.L. Arequipa 2019. Universidad Católica de Santa María. <https://core.ac.uk/download/pdf/287059656.pdf>
8. Berhe, Y. K., Portillo, L., & Vásquez-Bolaños, M. (2023). Testing *Opuntia ficus-indica* genotypes for resistance against *Dactylopius coccus* (Hemiptera: Dactylopiidae). Revista Colombiana de Entomología, 49(2). <https://doi.org/10.25100/socolen.v49i2.12760>
9. CanariWiki. (2014). [Gobiernodecanarias.org. https://www3.gobiernodecanarias.org/medusa/wiki/index.php?title=Cochinilla#:~:text=Se%20trata%20de%20un%20insecto,tunera%20y%20proviene%20de%20Am%C3%A9rica.](https://www3.gobiernodecanarias.org/medusa/wiki/index.php?title=Cochinilla#:~:text=Se%20trata%20de%20un%20insecto,tunera%20y%20proviene%20de%20Am%C3%A9rica.)
10. Carlos Arreola López. (2020, July 24). La edad productiva para un nopal va desde los 3 hasta los 15 años, de hecho, las plantas pueden vivir hasta 80 años sin ningún. Independiente; Independiente. <https://independientemx.opennemas.com/articulo/economia/edad-productiva-nopal-va-3-15-anos-hecho-plantas-pueden-vivir-80-anos-ningun/20200724180643000984.html>
11. carlroth. (2020). SECCIÓN 1: Identificación de la sustancia o la mezcla y de la sociedad o la empresa 1.1 Identificador del producto. <https://www.carlroth.com/medias/SDB-1H3X-ES>

12. Castillo, J. (2014). Manual para la producción de grana cochinilla.
13. Comité Estatal de Sanidad Vegetal del Distrito Federal - CESAVE. (n.d.). Manejo fitosanitario del nopal.
14. cromtek. (2023). Espectrofotometría UV-VIS – Cromtek. Cromtek.cl. <https://www.cromtek.cl/espectrofotometria-uv-vis/>
15. debazan, & debazan. (2020). ¿Qué es ácido carmínico? Debazan.es. <https://debazan.es/que-es-acido-carminico>
16. Dey, R., Linares, G., Munguía, R., & Edith Carrasco Chávez. (2019). Construcción y Validación de un Instrumento para Evaluar el Consumo de Alimentos con Rojo Allura. *Información Tecnológica*, 30(3), 219–226. <https://doi.org/10.4067/s0718-07642019000300219>
17. Encarna Gómez. (2016). Colorantes naturales, tendencias en alimentación y consumo. AINIA. <https://www.ainia.es/ainia-news/colorantes-naturales-tendencias-alimentacion-otros-productos-consumo/>
18. FAO, Sáenz, C. (2006). Utilización agroindustrial del nopal. *Boletín de servicios agrícolas de la FAO*. 162. 99 – 148.
19. FAO-OMS. (1993). Codex standard for nopal (codex stan 185-1993).
20. Farbe naturals. (2018). ¿Son los colorantes artificiales inofensivos o dañinos para la salud de los niños? - Farbe Naturals. Farbe. <https://farbe.com.mx/los-colorantes-artificiales-inofensivos-daninos-la-salud-los-ninos/>
21. Farbe. (2018). Tipos de colorantes artificiales para alimentos y sus usos - Farbe Naturals. Farbe. <https://farbe.com.mx/tipos-de-colorantes-artificiales-paraalimentos-y-sus-usos/CA>

22. Fisher. (2024). *Ácido carmínico, 70-90 %*, Thermo Scientific Chemicals | Fisher Scientific. Fishersci.es. <https://www.fishersci.es/shop/products/carminic-acid-70-90-thermo-scientific/10104161>
23. García, G. (2023, May 26). Colorantes naturales que le dan vida y atractivo a los alimentos y bebidas - THE FOOD TECH - Medio de noticias líder en la Industria de Alimentos y Bebidas. THE FOOD TECH - Medio de Noticias Líder En La Industria de Alimentos Y Bebidas. <https://thefoodtech.com/ingredientes-yaditivos-alimentarios/colorantes-naturales-que-le-dan-vida-y-atractivo-a-losalimentos-y-bebidas/>
24. Guamán, G. (2022). Eficacia de métodos de infestación de grana cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa) enRuna (*Opuntia ficus-indica. L*) en invernadero en la estación experimental Tunshi.
25. GUSQUI. (2012). “Eficacia de los métodos de infestación y el número óptimo de hembras madre por cladodio de tuna (*opuntia ficus indica*), para la producción de grana cochinilla (*dactylopius coccus* costa), bajo invernadero en la comunidad chingazo alto del canton guano, provincia de chimborazo<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2232/1/13T0758%20.pdf>
26. Hernández, Á., Matos, L., Rojas, J., Santa Cruz, P., Cortez, A., & Huayna, L. (2017). Utilización de la técnica Nopaloteca para la crianza de *Dactylopius coccus* Costa bajo condiciones controladas.
27. imbarex. (2023). ¿Qué es el rojo 40? IMBAREX | Natural Colors. <https://imbarex.com/es/que-es-el-rojo-40/>

28. Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología - INAMHI. (2024). Condiciones Meteorológicas Guayaquil - Durán.
29. Jorge, P., & Troncoso, L. (2016). Capacidad antioxidante del fruto de la *Opuntia apurimacensis* (ayrampo) y de la *Opuntia ficus-indica* (tuna). *Anales de La Facultad de Medicina*, 77(2), 105–105. <https://doi.org/10.15381/anales.v77i2.11812>
30. L.A. Tarango-Arámbula, R. Magallanes-Quintar, A. Carnero-Hernández, F. Blanco-Macias, & R.D. Valdez-Cepeda. (2014). Influencia del fotoperiodo sobre algunos parámetros demográficos y calidad de la cochinilla (*Dactylopius coccus*). *AGRO Productividad*, 7(3), 34–42. <https://go.gale.com/ps/i.do?p=IFME&sw=w&issn=&v=2.1&it=r&id=GALE%7CA382536711&sid=googleScholar&linkaccess=abs&userGroupName=anon%7Ea2cc4cf8&aty=open-web-entry>
31. Lajoyaexport. (2016). *COCHINILLA - Colorante natural - Acido carmínico - Cochineal, Carmine, Carminic acid - Nuestra empresa es líder en el sur del Perú, tanto en producción como en ventas, tenemos la capacidad de manejar volúmenes significativos semanalmente, lo que nos permite surtir de mercadería a empresas de transformación (cochinilla a carmín de cochinilla) en Lima y en el extranjero*. Lajoyaexport.com. https://www.lajoyaexport.com/cochinilla_cochineal.html
32. Li, N., Wang, Q., Zhou, J., Li, S., Liu, J., & Chen, H. (2022). Insight into the Progress on Natural Dyes: Sources, Structural Features, Health Effects, Challenges, and Potential. *Molecules*, 27(10), 3291–3291. <https://doi.org/10.3390/molecules27103291>

33. Mandujano, A., & Mandujano, M. (2021). De la cochinilla y del nopal: el ácido carmínico, una antraquinona multifuncional. ResearchGate; unknown. https://www.researchgate.net/publication/355406806_De_la_cochinilla_y_del_nopal_el_acido_carminico_una_antraquinona_multifuncional
34. Miguel Calvo. (2016). Colorantes artificiales. Unizar.es. <https://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/aditivos/colorartif.html>
35. Mora, T., Suárez, M., Brito, C., & Almachi, D. (2023). SOLVATOCHROMIC BEHAVIOR OF THE NATURAL COLORANT OF BLUEBERRY (*Vaccinium floribundum Kunth*). Granja, 38(2), 9–16. <https://doi.org/10.17163/lgr.n38.2023.01>
36. Núñez, E. (2020). Sangre de nopal. El rojo mexicano de la grana cochinilla. Ciencia UNAM. <https://ciencia.unam.mx/leer/1031/sangre-de-nopal-el-rojo-mexicano-de-la-grana-cochinilla>
37. Nwe Nwe Oo, Yu Mon Saw, Ni, N., Zaw Zaw Aung, Hnin Nandar Kyaw, Ae Mon Tun, Kariya, T., Yamamoto, E., & Nobuyuki Hamajima. (2019). Consumption of foods containing prohibited artificial colors among middle-school children in Nay Pyi Taw union territory, Myanmar. BMC Public Health, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12889-019-6669-5>
38. Ocampo, claudia. (2019). caracterización de colorantes. Academia.edu. https://www.academia.edu/28799540/caracterizacion_de_colorantes
39. Orginor Natural. (2018). Orginor Natural. <https://orginornatural.com/carmin-yacido-carminico/>
40. Pérez, M. & Becerra, R. (2001). La cochinilla. Biodiversidad. Boletín Bimestral de la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 36. 2 – 15. http://www.conabio.gob.mx/institucion/conabio_espanol/doctos/biodiver36.pdf

41. Romero López, B. E.; Flores Hernández, A.; Santamaría César, E.; Salazar Torres, J. C.; Ramírez Delgado, M.; Pedroza Sandoval, A. (2006). IDENTIFICACIÓN, BIOLOGÍA Y ADAPTACION DE LA COCHINILLA SILVESTRE *Dactylopius opuntiae* (Homóptera: *Dactylopiidae*) A LAS CONDICIONES AMBIENTALES DE BERMEJILLO, DURANGO. Revista Chapingo Serie Zonas Áridas, vol. V, núm. 1, pp. 41-48
42. Salazar Llangarí, K., Erazo-Lara, A., Oñate Bastidas III, B., Condo Plazas, L., & Cañar Rivera, J. (2023). Extracción de ácido carmínico como colorante natural a partir de la cochinilla (*Dactylopius Coccus Costa*). Polo del Conocimiento, 8(3), 583-605. doi:<http://dx.doi.org/10.23857/pc.v8i3.5323>
43. Salazar, K., Erazo, A., Oñate, B., Condo, L., & Cañar, J. (2023). Extracción de ácido carmínico como colorante natural a partir de la cochinilla (*Dactylopius Coccus Costa*). Polo Del Conocimiento, 8(3), 540–564.
44. Secretaría de agricultura y desarrollo rural. (2017). Grana cochinilla, un rojo muy mexicano con mucha historia. Gob.mx. <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/grana-cochinilla-un-rojo-muy-mexicano-con-mucha-historia>
45. Vega, G. (2023). Tonos rojos: los colorantes alimentarios naturales para formulaciones óptimas - THE FOOD TECH - Medio de noticias líder en la Industria de Alimentos y Bebidas. THE FOOD TECH - Medio de Noticias Líder En La Industria de Alimentos Y Bebidas. <https://thefoodtech.com/ingredientes-y-aditivos-alimentarios/tonos-rojos-los-colorantes-alimentarios-naturales-para-formulaciones-optimas-2/>

46. Vela, E. (2018). La grana cochinilla. *Arqueología Mexicana*.
<https://arqueologiamexicana.mx/mexico-antiguo/la-grana-cochinilla#:~:text=Miden%20de%203%20a%206,humana%20en%20su%20cultivo%2C%20Machos>.
47. Villa, F. (2011). Estudio de Factibilidad de Cultivo de Tuna para la Producción de Cochinilla en el sector Chota.
48. Wiersum, K. (1997). Indigenous exploitation and management of tropical forest resources: and evolutionary continuum in forest-people interactions. *Agriculture System and Environment* 9(5): 38-43.
49. Yuen, C. W. M. (2005). Determining Functional Groups of Commercially Available Ink-Jet Printing Reactive Dyes Using Infrared Spectroscopy | *Emerald Insight. Research Journal of Textile and Apparel*, 9(2), 26–38.
<https://doi.org/10.1108//RJTA>
50. Morales, M. (1994). Estudio del ciclo biológico de la cochinilla silvestre (*Dactylopius* sp). Universidad de Guadalajara.
http://repositorio.cucba.udg.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/2788/Morales_Vega_Martha_Angelica.pdf?sequence=1
51. Amasifuen, A. D. H., Lanfranco, L. A. M., Chávez, J. A. R., Ventura, A. P. S. C., Lázaro, A. A. C., & Dueñas, L. A. H. (2017). Utilización de la técnica Nopaloteca para la crianza de *Dactylopius coccus* Costa bajo condiciones controladas. *Infinitum...*, 7(2).
52. Ramírez Dávila, J. F., Porcayo Camargo, E., & Sánchez Pale, J. R. (2012). Análisis de la distribución espacial de *Bactericera Cockerelli* Sulc (HEMIPTERA: TRIOZIDAE) en *Solanum Tuberosum* L. En Donato Guerra Mexico.

53. Min. de Desarrollo Agrario y Riesgo. (2021). PERFIL DE MERCADO DE LA COCHINILLA.
<https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/3952148/An%C3%A1lisis%20de%20Mercado%20de%20la%20Cochinilla.pdf.pdf?v=1671548167>
54. *Toppr-guides*. (2020). Toppr-Guides.
<https://www.toppr.com/guides/chemistry/solutions/solvent/#:~:text=There%20are%20two%20types%20of%20solvents%20they%20are%20organic%20solvents,such%20as%20alcohols%2C%20glycol%20ethers.>
55. G. Suganthi, S. Sivakolunthu, & Ramakrishnan, V. (2010). Solvatochromic and Preferential Solvation Studies on Schiff Base 1,4-Bis(((2-Methylthio)Phenylimino)Methyl) Benzene in Binary Liquid Mixtures. *Journal of Fluorescence*, 20(6), 1181–1189.
56. Akpe, V., Biddle, T. J., Madu, C., Kim, T. H., Brown, C. L., & Cock, I. E. (2022). Using new solvatochromic parameters to investigate dye–solvent interactions. *Australian Journal of Chemistry*, 75(3), 206–219.
<https://doi.org/10.1071/ch21201>
57. Martinez. (2015). *Evaluacion comparativa de los metodos thorpe y frances para la obtencion de carmin a partir de la cochinilla (dactylopius coccus costa) en el distrito de la joya*. Concytec.gob.pe.
https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNSA_0f06121e603b9baa3ed409a83ba0c4dd/Details
58. Mohamed El Aalaoui, & Sbaghi, M. (2022). Temperature Dependence for Survival, Development, and Reproduction of the Cactus Cochineal *Dactylopius opuntiae* (Cockerell). *Insects*, 13(5), 426–426. <https://doi.org/10.3390/insects13050426>

59. El País. (2023, September 2). *La lucha por mantener viva a la grana cochinilla, el tinte mexicano tradicional*. El País México. <https://elpais.com/mexico/2023-09-02/la-lucha-por-mantener-viva-a-la-grana-cochinilla-el-tinte-mexicano-tradicional.html#:~:text=Extraer%20el%20tinte%20de%20cochinilla%20o%20grana,se%20colocaron%20como%20un%20s%C3%ADmbolo%20de%20estatus>
60. Barahona , S. (2011). *FACULTAD DE CIENCIAS ECONÓMICAS Y ADMINISTRATIVAS TÍTULO DEL TRABAJO*. <https://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/2849/1/UDLA-EC-TLCEAM-2011-04.pdf>
61. Antesis . (2024). *Polvo de añil*. Antesis. <https://antesis.com.mx/us/products/whole-cochineal/>
62. Jill Briggeman. (2016). *Short History of the Cochineal Red*. ARTECHNE – Technique in the Arts, 1500-1950. <https://artechne.wp.hum.uu.nl/short-history-of-the-cochineal-red/>
63. Schneider, R. (2022). 86. https://ru.micisan.unam.mx/bitstream/handle/123456789/224/VOM_2019_0109_0086.pdf?sequence=1
64. Acosta, J., & Ruiz, S. (2023). *Colorantes: Grana cochinilla una contribución mexicana – ANAFAPYT*. Anafapyt.com. <https://anafapyt.com/colorantes-grana/>