

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCVELICA**

(Creada por Ley N° 25265)



**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE AGROINDUSTRIAS**  
**TESIS**

**"Caracterización fisicoquímico y concentración de antocianinas en el fruto de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer)"**

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:**

**CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS PRODUCTOS AGROINDUSTRIALES**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**PRESENTADO POR EL BACHILLER:**

**SOTACURO DE LA CRUZ, Roman**

**ACOBAMBA - HUANCVELICA**

**2013**

# ACTA DE SUSTENTACIÓN O APROBACIÓN DE UNA DE LAS MODALIDADES DE TITULACIÓN

En la Ciudad Universitaria "Común Era"; auditorio de la Facultad de Ciencias Agrarias, a los 06 días del mes de junio del año 2013, a horas 3:45 p.m., se reunieron; el Jurado Calificador, conformado de la siguiente manera:

- Presidente** : Ing. Virgilio VALDERRAMA PACHO
- Secretario** : Ing. Alfonso RUIZ RODRÍGUEZ
- Vocal** : Mag. Sc. Ing. Frank Fluker VELASQUEZ BARRETO
- Accesitario** : Ing. Ronald ASTETE TEBES

Designados con **RESOLUCIÓN N° 133-2013-CF-FCA-UNH**; del: Proyecto de Investigación. Titulado:

**"CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICO Y CONCENTRACIÓN DE ANTOCIANINAS EN EL FRUTO DE LACCA LACCA (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer)"**

Cuyo autor es el graduado:

**BACHILLER: Roman SOTACURO DE LA CRUZ**

A fin de proceder con la evaluación y calificación de la sustentación del proyecto de investigación, antes citado.

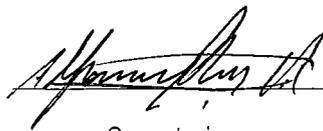
Finalizado la evaluación; se invitó al público presente y al sustentante abandonar el recinto; y, luego de una amplia deliberación por parte del jurado, se llegó al siguiente el resultado:

APROBADO POR  POR... *M.A.S. e. N. i. A.* .....

DESAPROBADO

En conformidad a lo actuado firmamos al pie.

  
 \_\_\_\_\_  
 Presidente

  
 \_\_\_\_\_  
 Secretario

  
 \_\_\_\_\_  
 Vocal

\_\_\_\_\_  
 Accesitario

**Asesor:**

Ing. Roberto Carlos CHUQUILIN GOICOCHEA



**Co-asesor:**

Ing. Rafael Julián MALPARTIDA YAPIAS



**Dedicatoria:**

Lo dedicó este presente trabajo de investigación (TESIS), a mi hijo JHOSHIRO y a su mama y a toda mi familia y a mis amigos que gracias a sus apoyos he podido realizar planificación y ejecución del presente informe...



## Agradecimientos

- A Dios y mis padres por el constante aliento a seguir adelante con mis propósitos, por la confianza y comprensión que me brindan.
- A mis hermanos (as) (Maribel, Costa, Oscar y Yanina), con quienes compartí momentos alegres y tristezas, a ustedes mis más sinceros agradecimientos.
- Mi eterna gratitud a mi Alma Mater, la Universidad Nacional de Huancavelica, en cuyas aulas guardo mis más secretos recuerdos y fue testigo de mi formación profesional.
- A los docentes de la Escuela Académico Profesional de Agroindustrias de la Facultad de Ciencias Agrarias, por sus enseñanzas y consejos que forjaron en mí, que fueron pilares fuertes en mi desarrollo profesionales.
- A mis asesores: Ing. Roberto Carlos Chuquillín Goicochea y Ing. Rafael Julián Malpartida Yapias por brindarme su amistad, apoyo y orientación profesional constante, en la planificación y ejecución del presente trabajo de investigación.
- A mis amigos por sus apoyos incondicionales durante mi formación como profesional y en ejecución del presente trabajo de investigación.

## ÍNDICE

RESUMEN.....	12
INTRODUCCIÓN.....	13
CAPITULO I: PROBLEMA.....	14
1.1. Planteamiento del problema.....	14
1.2. Formulación del problema.....	15
1.2.1. Problema general .....	15
1.2.2. Problema específico .....	15
1.3. Objetivo:.....	15
1.3.1. Objetivo General.....	15
1.3.2. Objetivo Específicos .....	15
1.4. Justificación.....	16
1.4.1. Justificación socioeconómica.....	16
1.4.2. Justificación científica y tecnológica .....	16
1.4.3. Justificación ambiental.....	17
CAPÍTULO II: ANTECEDENTES.....	18
2.1. Bases teóricas.....	20
2.1.1. Taxonomía de Lacca lacca .....	20
2.1.2. Compuestos bioactivos.....	20
2.1.3. Colorantes naturales.....	22
2.1.4. Características fisicoquímicos .....	22
2.1.5. Antocianinas .....	23
A. Estructura.....	25
B. Propiedades .....	27
C. Ubicación de las antocianinas en tejidos vegetales .....	31
D. Antocianinas como colorantes alimenticias.....	31
E. Beneficios de la antocianina.....	32
F. Efectos positivos de las antocianinas sobre la salud.....	32
G. Estabilidad de las antocianinas .....	33
H. Factores que afectan el color y la estabilidad de las antocianinas.....	34
2.1.6. Antioxidantes .....	35
A. Familias de compuestos fenólicos.....	36

2.1.7.	Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).....	37
2.2.	Hipótesis: .....	37
2.5.	Variables de estudio.....	37
2.5.1.	Variable independientes .....	37
2.5.2.	Variables dependiente.....	38
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN .....		39
3.1.	Ámbito de estudio .....	39
3.2.	Tipo de investigación:.....	39
3.3.	Nivel de investigación.....	39
3.4.	Método de investigación.....	40
3.5.	Diseño de investigación .....	40
3.6.	Población, muestra, muestreo.....	41
3.7.	Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	41
3.8.	Procedimiento de recolección de datos.....	42
3.9.	Técnicas de procesamiento y análisis de datos .....	42
3.9.1.	Análisis a realizarse.....	43
CAPITULO IV: RESULTADOS .....		44
4.1.	Presentación de resultado.....	44
4.1.1.	Análisis fisicoquímico del fruto de <i>Lacca lacca</i> en estado pintón.....	44
4.1.2.	Análisis fisicoquímico e identificación de antocianinas del fruto de <i>Lacca lacca</i> en estado maduro.....	44
4.1.3.	Análisis de identificación de posición de taxonómica de la planta de <i>Lacca lacca</i> .....	48
4.2.	Discusión.....	49
4.2.1.	Características fisicoquímicos del fruto de <i>Lacca lacca</i> ( <i>Gaultheria glomerata</i> (Cav.) Sleumer) en estado pintón y maduro .....	49
4.2.2.	Análisis químico proximal del fruto de <i>Lacca lacca</i> ( <i>Gaultheria glomerata</i> (Cav.) Sleumer) en estado pintón y maduro.....	50

77

4.2.3. Cuantificación de antocianinas en el fruto de <i>Lacca lacca</i> ( <i>Gaultheria glomerata</i> (Cav.) Sleumer) en estado pintón y maduro .....	51
4.2.4. Identificación de antocianinas en el fruto de <i>Lacca lacca</i> ( <i>Gaultheria glomerata</i> (Cav.) Sleumer) en estado maduro .....	53
CONCLUSIONES .....	56
RECOMENDACIONES.....	58
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA .....	59
ANEXO .....	62

## ÍNDICE CUADROS

<b>Cuadro N° 01.</b> Valores medios obtenidos de las características fisicoquímicas evaluadas en las frutas de diferentes especies.....	23
<b>Cuadro N° 02.</b> Valores obtenidos de las características fisicoquímicos del ayrampu.....	23
<b>Cuadro N° 03.</b> Contenido de antocianinas en diferentes bayas.....	24
<b>Cuadro N° 04:</b> Tipos de Antocianinas.....	24
<b>Cuadro N° 05:</b> Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	42
<b>Cuadro N° 06:</b> Procedimiento de recolección de datos.....	42
<b>Cuadro N° 07.</b> Características fisicoquímicos y contenido de antocianinas en el fruto de Lacca lacca en estado pintón.....	44
<b>Cuadro N° 08.</b> Características fisicoquímicos y contenido de antocianinas en el fruto de Lacca lacca en estado maduro.....	45
<b>Cuadro N° 09.</b> Tipos de antocianinas presentes en el fruto de Lacca lacca en estado maduro.....	46
<b>Cuadro N° 10.</b> Comparación fisicoquímicos del fruto del Lacca lacca con otras frutas.....	49
<b>Cuadro N° 11.</b> Comparación fisicoquímicos del fruto del Lacca lacca con otras frutas.....	50
<b>Cuadro N° 12.</b> Comparación concentración de antocianinas del fruto del Lacca lacca con otras frutas.....	52
<b>Cuadro N° 13.</b> Comparación de antocianinas del fruto del Lacca lacca con otras frutas.....	54



## ÍNDICE FIGURAS

<b>Figura N° 01.</b> Estructura básica de las antocianinas.....	25
<b>Figura N° 02.</b> Estructura de las antocianinas más comunes.....	26
<b>Figura N° 03.</b> Transformación estructural de las antocianinas en diversos valores de pH.....	30
<b>Figura N° 04.</b> Neutralización del radical libre por un antioxidante.....	36
<b>Figura N° 05.</b> Pasos de diseño de investigación realizada.....	40
<b>Figura N° 06:</b> Contenido de tipos de antocianinas en fruto de <i>Lacca lacca</i> en la cual se muestra la mayor cantidad el petunidina-3-glucósido.....	46
<b>Figura N° 07:</b> Cromatograma desarrollado en el equipo de HPLC, en el cual se observan 10 picos importantes, que representan a las 10 antocianinas presentes en fruto de <i>Lacca lacca</i> ( <i>Gaultheria glomerata</i> (Cav.) Sleumer).....	47
<b>Figura N° 08.</b> Comparación fisicoquímicos del fruto del <i>Lacca lacca</i> con otras frutas ...	50
<b>Figura N° 09.</b> Comparación químico proximal del fruto del <i>Lacca lacca</i> con otras frutas	51
<b>Figura N° 10.</b> Comparación de concentración de antocianina del fruto del <i>Lacca lacca</i> con otras frutas.....	53
<b>Figura N° 11.</b> Comparación de antocianina del fruto del <i>Lacca lacca</i> con otras frutas....	55
<b>Figura N° 12:</b> Fruto de <i>Lacca lacca</i> .....	67
<b>Figura N° 13:</b> Frutos de <i>Lacca lacca</i> .....	67
<b>Figura N° 14:</b> Planta de <i>Lacca lacca</i> .....	68
<b>Figura N° 15:</b> Foto de HPC.....	68

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar las características fisicoquímicas y el contenido de antocianinas del fruto de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer), la cual es una especie, aún, silvestre del Perú, que pertenece a la familia *Caprifoliaceae*; y cuyas potencialidades hasta ahora se desconocían. El análisis de la pigmentación, por el método de pH diferencial, determinó una alta presencia de antocianinas, y fue de 7,10 g /100 g en el tejido del fruto fresco en estado maduro con pH de 3,01 y 6,98 g /100 g en el tejido del fruto fresco en estado pintón con un pH de 3,56.

El análisis por el método HPLC – MS/MS, confirmó la presencia de 10 picos y los pesos moleculares permitieron conocer las antocianinas presentes en *Lacca lacca* y su porcentaje de participación de las antocianinas totales, los cuales fueron: petunidina-3-glucósido (24,24%), delphinidina-3-glucósido (23,4%), malvidina-3-glucósido (21,6%), cianidina-3-glucósido (10,18%), petunidina-3-rutinósido (7,16%), malvidina-3-rutinósido (4,97%), cianidina-3-rutinósido (3,72%), delphinidina-3-rutinósido (2,63%), peonidina-3-glucósido (1,13%) y peonidina-3-rutinósido (0,97%). De los seis tipos de antocianinas de interés de uso agroindustrial se ha encontrado cinco tipos de antocianinas en el fruto de *Lacca lacca* por lo cual el fruto es importante fuente de antocianinas de uso agroindustrial. El análisis fisicoquímico mostró que en estado pintón, el fruto de *Lacca lacca*, contiene: humedad 80,52%, ceniza 2,09%, proteína 0,84%, grasa 1,09%, fibra 2,86%, carbohidratos 12,6%, ácido (exp. en ácido cítrico) 0,03, pH 3,56 y sólidos solubles 5,78%. En cambio en estado maduro, contiene: humedad 78,49%, ceniza 1,87%, proteína 0,90%, grasa 0,91%, fibra 2,69%, carbohidratos 15,14%, ácido (exp. en ácido cítrico) 0,042, pH 3,01 y sólidos solubles 6,03%.

Estos resultados revelan al fruto de *Lacca lacca* como promisorio, para su aprovechamiento agroindustrial como fuente importante de antocianinas.

**Palabras clave:** Caracterización, antocianinas, *Lacca lacca*, HPLC – MS/MS



## INTRODUCCIÓN

Las antocianinas pertenecen a un gran y muy distribuido grupo de metabolitos secundarios, que se conocen colectivamente como flavonoides.

Las antocianinas son los componentes que otorgan a las plantas colores rojos, azules, morados, particularmente en partes como frutos, flores y hojas. Estos pigmentos fueron consumidos por los hombres a lo largo de incontables generaciones sin causar aparentemente ningún efecto tóxico.

El interés por las antocianinas se ha incrementado debido a su potencial uso como colorantes naturales y por sus potenciales beneficios en la salud.

Últimamente, la seguridad de los pigmentos sintéticos ha sido cuestionada, conduciendo a la reducción en el número de colorantes permitidos.

Las antocianinas son pigmentos solubles en agua, lo que facilita su incorporación en los sistemas acuosos alimentarios. Estas cualidades hacen que estos colorantes naturales sean atractivos como pigmentos naturales inocuos con considerable potencial en la industria de los alimentos en productos con un rango de pH ácido.

Además de su color, se ha reportado que las antocianinas tienen beneficios para la salud como potentes antioxidantes y pueden incrementar la agudeza visual. Se ha observado también que poseen actividad antineoplásica, vasotónica, vasoprotectora, anti-inflamatoria y hepatoprotectora.

En el Perú existen muchas especies silvestres, una de ellas es *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer), que crece especialmente alrededor de los campos de cultivo a manera de protección, debido a sus hojas grandes y no tiene espinas, sus flores son rosadas y sus frutos morados.

Asimismo, algunas tradiciones orales, sugieren que estos frutos eran usados por las nuestras durante el Incanato para lavar y cuidar sus cabellos a manera de un champú colorante natural.

## CAPITULO I: PROBLEMA

### 1.1. Planteamiento del problema

La necesidad de identificación las fuentes de extracción de antocianinas porque hay demanda de antocianina a nivel mundial, obtenida a partir de fuentes colorantes naturales, se calcula entre 1,2 y 1,3 toneladas anuales. Los principales países consumidores son Japón y Estados Unidos y en menor escala Francia, Inglaterra, Alemania, España, Bélgica y Venezuela. La producción global de antocianinas está orientada a las empresas productoras de bebidas, saborizantes de yogur y golosinas. En la actualidad el interés por los pigmentos antocianinas y su investigación científica se ha incrementado en los últimos años, debido no solamente al color que confieren a los productos que las contienen sino a su probable papel en la reducción de las enfermedades coronarias, cáncer y diabetes; a sus efectos antiinflamatorios y al mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo. Por lo tanto, además de su papel funcional como colorantes, las antocianinas son agentes potenciales en la obtención de productos con valor agregado para el consumo humano. El uso de colorantes naturales que son extraídos de plantas no producen daños a la salud, entre estos pigmentos naturales se encuentran las antocianinas.

Por tal motivo en el Centro Poblado de Huayanay distrito de Anta de la provincia de Acobamba Región Huancavelica existen variedad de biodiversidades que no están estudiados sus hojas, tallos y frutos, como por ejemplo *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer) donde abunda es planta y tiene fruto, tal fruto no es aprovechado por los pobladores de la zona por desconocimiento de sus propiedades como los compuestos bioactivos como la antocianina que contiene el fruto de dicha planta, las antocianinas son el grupo más importante de pigmentos que se hallan principalmente en flores, frutos y están incluidas en la lista de compuestos naturales

conocidos por su mecanismo de poderosos antioxidantes y tienen un potencial considerable en la rama alimentaria como aditivo por su carácter inocuo. Con esta investigación se pretende evaluar características fisicoquímicas y cuantificación de antocianinas para incentivo de población del Centro Poblado de Huayanay para su mejor cuidado y uso adecuado agroindustrial del fruto de *Lacca lacca*.

## **1.2. Formulación del problema**

### **1.2.1. Problema general**

- ¿Cuáles serán las características fisicoquímicas y la concentración de antocianinas en el fruto de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer) en estado pintón y maduro?

### **1.2.2. Problema específico**

- ¿Cuáles serán las características fisicoquímicas del fruto de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer) en estado pintón y maduro?
- ¿Cuál será la concentración de antocianinas en el fruto de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer) en estado pintón y maduro?

## **1.3. Objetivo:**

### **1.3.1. Objetivo General**

- Evaluación de las características fisicoquímicas y la concentración de antocianinas en el fruto de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer) en estado pintón y maduro.

### **1.3.2. Objetivo Específicos**

- Determinar las características fisicoquímicas del fruto de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer) en estado pintón y maduro.

- Determinar la concentración de antocianinas en el fruto de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer) en estado pintón y maduro.

## 1.4. Justificación

### 1.4.1. Justificación socioeconómica

El presente trabajo de investigación se constituye en alternativa tecnológica y por tanto permitirá disminuir los precios de los colorantes naturales (antocianina) está alcanzando valores preocupantes, y no hay muestras de que el aumento de los precios vaya a finalizar, debido que los colorantes sintéticos son agentes cancerígenos. Por esta razón, el estudiante de ingeniería agroindustrial tiene como objetivo identificar fuentes de antocianina, determinar características físico químicas y concentración de antocianinas en los frutos de *Lacca lacca* en la localidad para el uso agroindustrial. La mayoría de estos de los pobladores de la zona consumen bastante colorantes sintéticos, ya que con este trabajo de investigación tienen la facilidad de consumir colorantes naturales (antocianina) de los frutos silvestres de la zona, podemos disminuir el de colorantes sintéticos y los costos de los colorantes naturales para poder vivir sanos y felices los pobladores.

### 1.4.2. Justificación científica y tecnológica

El presente trabajo de investigación nace como una idea de innovación, por el aporte que nos brinda nuestra bondadosa naturaleza, entonces existe la necesidad de caracterización físicoquímico y determinación de concentración de antocianina en fruto de *Lacca lacca* en estado de pintón, ya que las antocianinas son pigmentos naturales que imparten colores a las plantas para diversas funciones, estos pigmentos representan un potencial para el reemplazo competitivo de colorantes sintéticos en alimentos, productos farmacéuticos y cosméticos y también posee la habilidad de retardar la degradación oxidativa de lípidos y por lo tanto conservar la calidad y el valor nutricional del alimento, la actividad de antocianinas posee la habilidad de retardar la degradación oxidativa

de lípidos y por lo tanto conservar la calidad y el valor nutricional del alimento. Los colorantes naturales están en demanda por los países desarrollados por los colorantes naturales (antocianina) como antocianinas son agentes anticancerígenos, las antocianinas ejercen efectos terapéuticos conocidos que incluye la reducción de la enfermedad coronaria, efectos antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos, además del mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo, los efectos terapéuticos de las antocianinas están relacionados con su actividad antioxidante, por otro lado fruto de *Lacca lacca* existe en abundancia en la comunidad y que nadie lo consume por falta de conocimiento de sus propiedades que contiene el fruto, sabiendo sus propiedades la población recolectaría, consumiría, comercializaría, hasta transformaría del fruto de *Lacca lacca* y mejoraría económicamente y nutricionalmente la población.

#### **1.4.3. Justificación ambiental**

Los resultados permite proponer alternativas de uso de productos naturales que proveen antocianinas en reemplazo de colorantes artificiales, que alteran la calidad ambiental.

## CAPÍTULO II: ANTECEDENTES

- Del Carpio *et al.*, (2009); cuando realizaron la **caracterización de las antocianinas de los frutos de Lechler (*Berberis boliviana*)**, concluyeron que, el pigmento de los frutos de Lechler presenta un contenido en antocianinas monoméricas de 7g/100g de frutos secos separados de las semillas, estando casi puras pues las cantidades de otros componentes fenólicos son mínimas. Las antocianinas identificadas por HPLC-MS/MS (espectro de masas tandem) y por comparación con el cromatograma del extracto concentrado de antocianinas de son: delphinidina-3-glucósido en un 23,43%, delphinidina-3-rutinósido en un 2,65%, cianidina-3-glucósido en un 10,16%, cianidina-3-rutinósido en un 3,75%,petunidina-3-glucósido en un 24,21%, petunidina-3-rutinósido en un 7,15%, peonidina-3-glucósido en un 1,12%, peonidina-3-rutinósido en un 0,94%, malvidina-3-glucósido en un 21,64% y malvidina-3-rutinósido en un 4,95%.
- Pastrana y Gutiérrez, (2009); cuando realizaron **Identificación y cuantificación de antocianinas en uvas muscadinas por cromatografía líquida y espectrometría de masas**, concluyeron que el contenido de antocianinas totales y el perfil de antocianinas individuales presentes en 10 cultivares de uvas muscadinas (5 de piel púrpura y 5 de piel bronce), cultivadas en el sur del estado de Georgia (Estados Unidos). Para efectos del análisis, las frutas fueron separadas en sus partes: piel, semilla y pulpa. El contenido de antocianinas totales fue determinado mediante un método de diferencial de pH y varió de 31 a 75 mg/100g de fruta fresca en las uvas púrpuras y de 0.4 a 1.3 en las uvas de color bronce. Las antocianinas individuales fueron analizadas mediante HPLC y su identidad confirmada mediante técnicas de HPLC-MS. La Delphinidina-3,5-diglucósido fue la antocianina más abundante (cerca del 46% del contenido total de antocianinas) y fue encontrada en las pieles de todas las frutas, en las

semillas de 9 de los cultivares, y en las pulpas de 3. Petunidina-3,5-diglucósido (23%) y malvidina-3,5-diglucósido (20%) fueron las siguientes en concentración, pero solo fueron encontradas en las pieles de 8 y las semillas de 5 de los cultivares estudiados. Cianidina-3,5-diglucósido (6%), peonidina-3,5-diglucósido (3%) y petunidina-3-monoglucósido (1%) fueron también detectadas en las pieles de las frutas de piel púrpura. En este artículo se reporta por primera vez la presencia de petunidina-3-monoglucósido en uvas muscadinas. El contenido de antocianinas y la suma de antocianinas individuales presentaron una correlación alta ( $R = 0,98$ ). El promedio del contenido de antocianinas totales reportado en este artículo fue más bajo que los publicados para uvas de tipo europeo y otras uvas americanas de piel roja y de otras frutas comunes. Sin embargo, las uvas muscadinas de piel púrpura presentaron niveles de antocianinas que pueden ser consideradas de importancia nutracéutica.

- Ortiz *et al.*, (2009); cuando realizaron **caracterización y estabilidad de antocianinas de higo, variedad (Misión)** se concluyeron que, las antocianinas del higo azul-morado (*Ficus carica*) variedad Mission fueron extraídas del tejido epidérmico liofilizado usando metanol acidificado, hidrolizadas con HCl y purificadas usando un cartucho. El contenido de antocianinas monoméricas, determinado por el método de diferencial de pH, fue 162 mg (100 g de tejido epidermal (base cianidina-glucósido). Por medio de HPLC se separó e identificó la cianidina como única antocianina presente en el higo. Se demostró que la mayor estabilidad de antocianinas extraídas de higo *Mission* se presenta a un pH de 3,0, a 4 °C y en oscuridad, conservándose durante 14 días.
- Burgos *et al.*, (2007) cuando realizaron **determinación de las características químicas, físicas y organolépticas del fruto de grosella (*Phyllanthus acidus* L)**, concluyeron que: La grosella es una fruta muy ácida apta para el procesamiento agroindustrial ya que sus características fisicoquímicas como pH, acidez y sólidos solubles cumplen con las especificaciones industriales para llevar a cabo dichos procesos, actualmente es poca la información científico - técnica sobre sus características. El objetivo de este trabajo fue caracterizar el fruto de la

grosella India (*Phyllanthus acidus* L), en seis estados de madurez. Se tomaron muestra aleatoriamente y por triplicado; determinando las características fisicoquímicas y organolépticas para establecer las perspectivas de agroindustrialización y relacionar la afinidad de estas variables con los valores establecidos por las normas de Incontec para la elaboración y obtención de productos alimenticios, presentando valores de acidez entre 2,127 y 2,531, valores de pH entre 2,959 y 3,276, y valores de SST (°Brix) entre 5,915 y 7,44.

## 2.1. Bases teóricas

La muestra fue identificación taxonómica de *Lacca lacca*, según el sistema de croquist (ver Anexo N° 01) en el Museo de historia natural de la UNMSM (2012).

### 2.1.1. Taxonomía de *Lacca lacca*

División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Orden	: Dipsacales
Familia	: Caprifoliaceae
Género	: <i>Gaultheria</i>
Especie	: <i>Gaultheria glomerata</i> (Cav.) Sleumer

### 2.1.2. Compuestos bioactivos

La existencia de compuestos bioactivos se ha visto evidenciada gracias a diversos estudios que han demostrado los efectos beneficiosos para la salud que aportan ciertos tipos de dieta, entre las que se incluyen la dieta vegetariana la dieta de alto consumo de cereales integrales, la dieta "prudente" la dieta mediterránea y la dieta tradicional japonesa (Katoet *al.*, 1973).

En general este tipo de dietas se caracterizan por un alto consumo de frutas, verduras, legumbres, aceite de oliva y cereales, y todas ellas han sido relacionadas con una reducción significativa del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y otro tipo de enfermedades crónicas (Kris-Etherton *et al.*, 2004).

A pesar de los efectos beneficiosos para la salud que comportan los compuestos bioactivos, éstos no son compuestos esenciales para la vida, y por lo tanto no forman parte del grupo de los nutrientes. Sin embargo, los efectos producidos por ellos son mucho más útiles que los de los nutrientes. Mientras que los compuestos bioactivos son capaces de influir en las actividades celulares modificando el riesgo de padecer enfermedades, los nutrientes simplemente previenen el riesgo de contraer una enfermedad debido a una carencia o déficit (De Lorgeril *et al.*, 1999).

Hasta la fecha se han identificados infinidad de compuestos bioactivos y este número sigue creciendo de manera asombrosa. Entre las funciones que realizan estos compuestos encontramos que pueden actuar como antioxidantes, inhibidores e inductores de enzimas, de la expresión génica etc. Pero estas actividades no son suficientes para definir un compuesto bioactivo, además deben tener asociados algún tipo de efecto beneficioso para la salud (Terry *et al.*, 2001).

El problema aparece cuando se trata de entender en profundidad cuales son los mecanismos exactos de estos compuestos y el porqué de sus efectos beneficiosos. Su descubrimiento, relativamente reciente, hace que los mecanismos de absorción, transporte en el organismo y metabolismo sean desconocidos para la gran mayoría de ellos. Por otro lado, la gran cantidad de compuestos, su diversidad y los numerosos factores que afectan su actividad biológica (modo en que se consumen, efectos del procesado, factores ambientales, etc.) hacen complicado este estudio. Además, también es de resaltar la diferente respuesta biológica de cada individuo frente al consumo de compuestos bioactivos, que variará dependiendo de sus características genéticas, su edad, su estado de salud, etc. (Kato *et al.*, 1973).

### 2.1.3. Colorantes naturales

Los colorantes naturales se clasifican según su procedencia en: vegetales, animales y minerales.

**A. Colorantes vegetales:** Los colorantes vegetales se dividen en 6 grupos:

- **Carotenoides:** La estructura química básica de la mayoría de estos compuestos es poliénica, de 40 átomos de carbono y se dividen en dos grandes grupos: carotenos y xantofilas.
- **Clorofila:** Este es, tal vez, el pigmento más abundante en la naturaleza y se encuentra en los cloroplastos. Es soluble en no polares.
- **Antocianinas:** Son pigmentos hidrosolubles con características de glucósidos, responsables de los colores rojo, anaranjado, azul y púrpura de las uvas, manzanas y fresas.
- **Flavonoides:** Son glucósidos formados por una aglicona que en muchos casos deriva del 2-fenilbenzopirona. Estos pigmentos son amarillos pero, a pesar de que existe un gran número de ellos, no contribuyen de manera importante en el color de los alimentos.
- **Betalainas:** Este término se refiere a un grupo de aproximadamente 70 pigmentos hidrosolubles con estructura de glucósidos y que se han dividido en dos grandes clases: betacianinas (rojo) y betaxantinas (amarillo).
- **Taninos:** Son una clase de compuestos fenólicos incoloros amarillo-café que se han dividido en dos grupos: los hidrolizables y los no hidrolizables (Fennema, 2000).

### 2.1.4. Características fisicoquímicas

Caracterización fisicoquímica de las frutas los valores de las características fisicoquímicas en las frutas evaluadas se relacionan en el Cuadro N° 01. Los resultados ponen de manifiesto diferencias de las variables analizadas, entre las diferentes especies frutales (Villalba *et al.*, 2005).

**Cuadro N° 01.** Valores medios obtenidos de las características fisicoquímicas evaluadas en las frutas de diferentes especies

Frutas	pH	Acidez	°Brix	I.M.*
Ciruela criolla	3,06	0,52	13,60	25,86
Melón criollo	6,01	0,09	7,33	78,39
Mango de clase	4,21	2,23	8,26	35,86
Grosella	2,01	3,57	5,73	1,60
Cereza criolla	2,94	3,91	6,53	1,67
Coco	6,13	0,32	9,73	30,36
Chirimoya	4,58	1,30	11,80	9,05

Fuente: Villalba *et al.* (2005) \*IM = Índice de madurez

**Cuadro N° 02.** Valores obtenidos de las características fisicoquímicos del ayrampu

Características	Resultados
pH	2,5
°Brix	17
Acidez(g /100 ml)	2,35
Índice de madurez(SST/acidez)	7,23
Proteínas (%)	1,11
Ceniza (%)	2,68
Grasa (%)	1,35
Humedad (%)	79,52
Fibra (%)	3,08
Carbohidratos (%)	12,63

Fuente: Ccatamayo y Valderrama, (2010).

### 2.1.5. Antocianinas

Las antocianinas son un grupo de pigmentos de color rojo, hidrosolubles, ampliamente distribuidos en el reino vegetal (Fennema, 1993).

Las antocianinas, también conocidas como flavonoides azules, son compuestos vegetales no nitrogenados pertenecientes a la familia de los flavonoides, de amplia distribución en la naturaleza. Son pigmentos solubles en agua, los cuales imparten la coloración roja, morada y azul a muchas frutas, verduras y granos de (Giusti y Wrolstad, 2001).

**Cuadro N° 03.** Contenido de antocianinas en diferentes bayas

Baya	Antocianinas (mg/100g)
Mora azul	60-480
Frambuesa	20-220
Arándano	20-360
Fresa	10-80
Zarzamora	183,63

**Fuente:** Rein, (2005).

El núcleo central flavilo constituye la antocianidina que unida a la fracción azúcar (glucosa, ramnosa, galactosa, arabinosa, xilosa o ácidoglucurónico) forma las antocianinas. Se conocen aproximadamente 20 antocianinas dentro de las cuales destacan por su importancia la pelargonidina, delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina. Su combinación con los diferentes azúcares genera aproximadamente 300 antocianinas (Badui, 2006).

**Cuadro N° 04:** Tipos de Antocianinas.

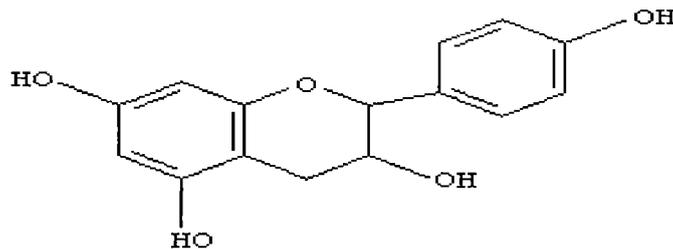
Antocianinas	R	R'
Cianidina	OH	H
Peonidina	OCH3	H
Delfinidina	OH	OH
Petunidina	OCH3	OH
Malvidina	OCH3	OCH3
Pelargonidina	H	H

**Fuente:** Wrolstad, (2001).

## A. Estructura

Las antocianinas son glucosidos solubles formados por una molécula de antocianidina (aglicona) que se unen a una fracción de carbohidrato a través de un enlace  $\beta$ -glucosídico y son una de las clases de flavonoides que existen en abundancia (Gross, 1987). La estructura química consiste en un grupo flavilo formado por un anillo de benzopirano unido a un anillo fenílico (Figura N° 1) (Badui, 1987).

Los monosacáridos comúnmente encontrados son D-glucosa, D-galactosa, L-Ramnosa, D-arabinosa y D-Xilosa, aunque también pueden contener oligosacáridos como gentobiosa, rutinosa y soforosa. Normalmente los monosacáridos se unen con los grupos hidróxilos de la posición 3 de la antocianidina, mientras que los disacáridos los hacen con hidróxilos 3 y 5 o bien con las posiciones 3 y 7 (Badui, 1987). El azúcar presente en la molécula otorga mayor estabilidad y solubilidad (Gross, 1987).



**Figura N° 01.** Estructura básica de las antocianinas

Algunas veces, las antocianinas se encuentran aciladas por ácidos fenólicos como el cafeico, el p-cumárico, el acético, el ferúlico o sináptico (Coulate, 1984).

Todas las antocianinas son derivadas del catión flavilo básico (Gross, 1987). Se conocen más de 100, las diferencias entre ellas se debe al número de grupos hidróxilos, el grado de metoxilación de éstos grupos, así como la naturaleza y el número de los ácidos aromáticos y alifáticos presentes en la molécula. De todas las antocianinas existentes, sólo seis

son de interés en los alimentos: pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina y malvinidina (Figura N° 2). Los restantes son menos frecuentes y se encuentran en algunas hojas (Gross, 1987).

Es común que una misma antocianidina interactúe con más de una clase de carbohidrato para formar diferentes antocianinas; la pelargonidina es la que produce el color rojo escarlata de algunas flores y de las fresas; la delphinidina se encuentra en las berenjenas y la cianidina en col roja, higos, cerezas, ciruelas, y otros frutos (Badui, 1981).

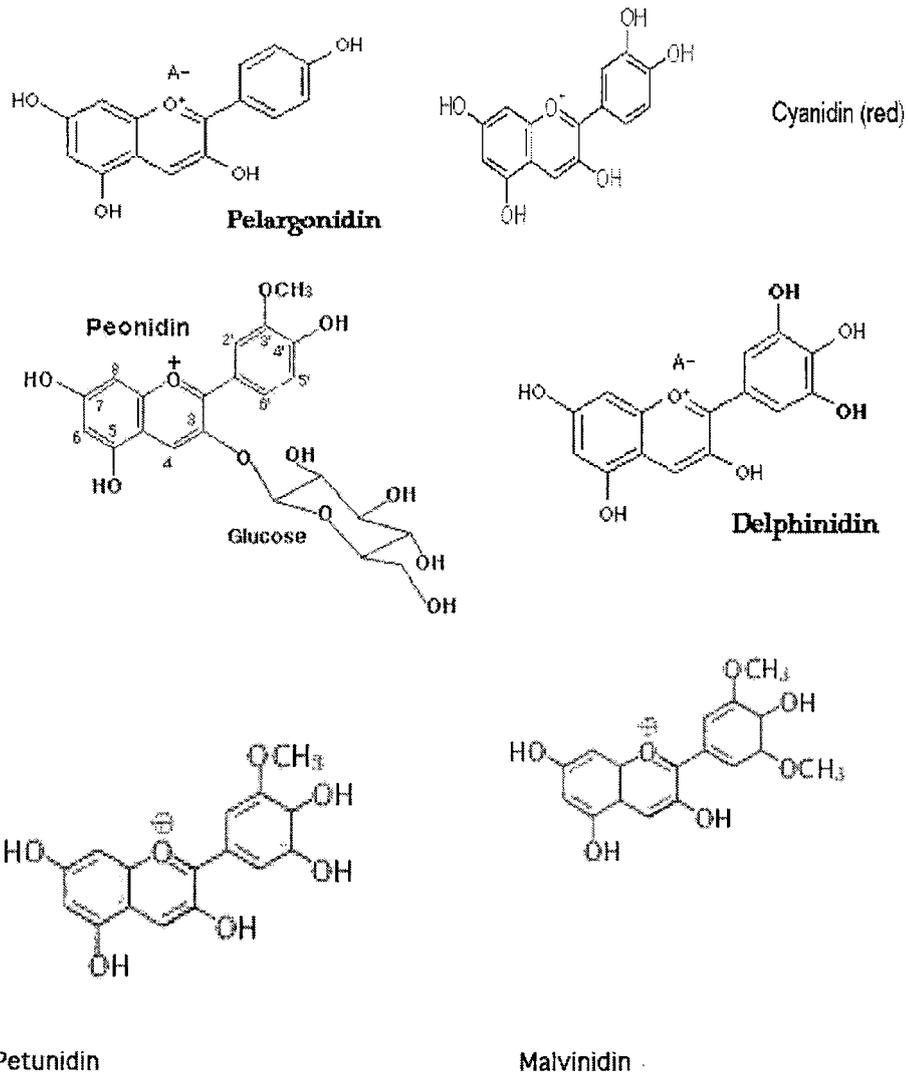


Figura N° 02. Estructura de las antocianinas más comunes

## B. Propiedades

- **Espectro de absorción**

Las antocianinas presentan una alta coloración en medio ácido debido a que contienen un cromóforo con de ocho dobles enlaces conjugados (Gross, 1987).

El espectro de absorción de los flavonoides se caracteriza por tener dos bandas separadas, una a longitudes de onda largas (Banda I) determinada por la conjugación del anillo B, y la segunda en la región ultravioleta (Banda II) determinada por la conjugación del anillo A. A mayor sustitución del anillo B, la absorbancia máxima de las antocianinas se desplaza hacia el extremo del rojo del espectro (Gross, 1987).

Las sales de antocianinas de alta coloración en una solución ácida poseen dos absorciones máximas, una en la región visible entre los 465 y 550 nm, y otra menos intensa en la región ultravioleta entre los 270 y 280 nm (Gross, 1987).

- **Reacciones químicas**

El núcleo flavilo de los pigmentos antocianicos es deficiente en electrones y por tanto muy reactivo. El color de las antocianinas depende de los sustituyentes químicos que contenga y la posición de los mismos en el grupo flavilo; es decir, si se aumentan los hidróxilos de los anillos fenólico se intensifica el color azul, mientras que la introducción de metoxilos provoca la formación de rojos (Fennema, 1985).

Las antocianinas forman complejos, quelatos o sales con cationes metálicos como el sodio, potasio, calcio, magnesio, estaño, hierro o aluminio cambiando el color, con estos dos últimos produce

coloraciones azules sobre todo con aquellas que tienen dos grupos en posición orto. La corrosión de las latas de estaño puede alterar el color de los alimentos de rojo a púrpura o azul sobre todo cuando estas latas se almacenan durante largos períodos de tiempo (Charley, 1982).

Otra reacción importante es con el dióxido de azufre, el cual se utiliza en la conservación antimicrobiana de vinos y zumos de frutas. A elevadas concentraciones (1-1.5%) origina una decoloración total e irreversible de las antocianinas, pero a menores concentraciones (500-2000 ppm) reaccionan con el catión flavilo formando un complejo de adición incoloro (Coulter, 1984).

Ocasionalmente el ácido ascórbico naturalmente presente puede dar lugar a problemas, en presencia de iones de cobre y de oxígeno, ya que reacciona oxidándose a ácido dehidroascórbico acompañado por la formación de agua oxigenada, la cual oxida las antocianinas, originando la formación de malvas incoloras (Coulter, 1984).

Las antocianinas interactúan fácilmente con otros flavonoides incoloros que abundan en los tejidos vegetales. Estas asociaciones que presumiblemente se basan en enlaces de hidrógeno entre grupos hidroxílicos, e interacciones hidrofóbicas entre anillos incrementan la intensidad en el color, tendiendo a estabilizar las formas azules quinoidales (Gross, 1987).

Las antocianinas también cambian de color cuando forman complejos con otros compuestos fenólicos (proantocianidinas, catequinas, taninos y flavonoides) o con algunos polisacáridos, ya que favorece un desplazamiento de la absorción a longitudes de onda mayores. En ocasiones, como en el caso de los vinos tintos con un alto contenido de tanino, se producen grandes agregados poliméricos de tamaño y características coloidales que pueden llegar a sedimentar al cabo de un

largo almacenamiento; cuando esto ocurre, se reduce la intensidad del color y se observa un precipitado algo obscuro (Gross, 1987).

- **Efecto del pH**

Se puede decir que las antocianinas actúan como indicadores ácido-base puesto que el color resultante está en función de la estructura que se encuentre en mayor proporción a determinados pH. A pH's muy bajos se forma el catión flavilo (rojo), a medida que incrementa el pH se forma la base quinoidal (anhidra) del color azul, en un medio alcalino, aparece el carbinol incoloro. En condiciones básicas fuertes (pH 7) se produce daño irreversible en el pigmento con la aparición de una chalcona de color amarillo pálido (Figura N°03) (Gross, 1987).

- **Efecto de la temperatura**

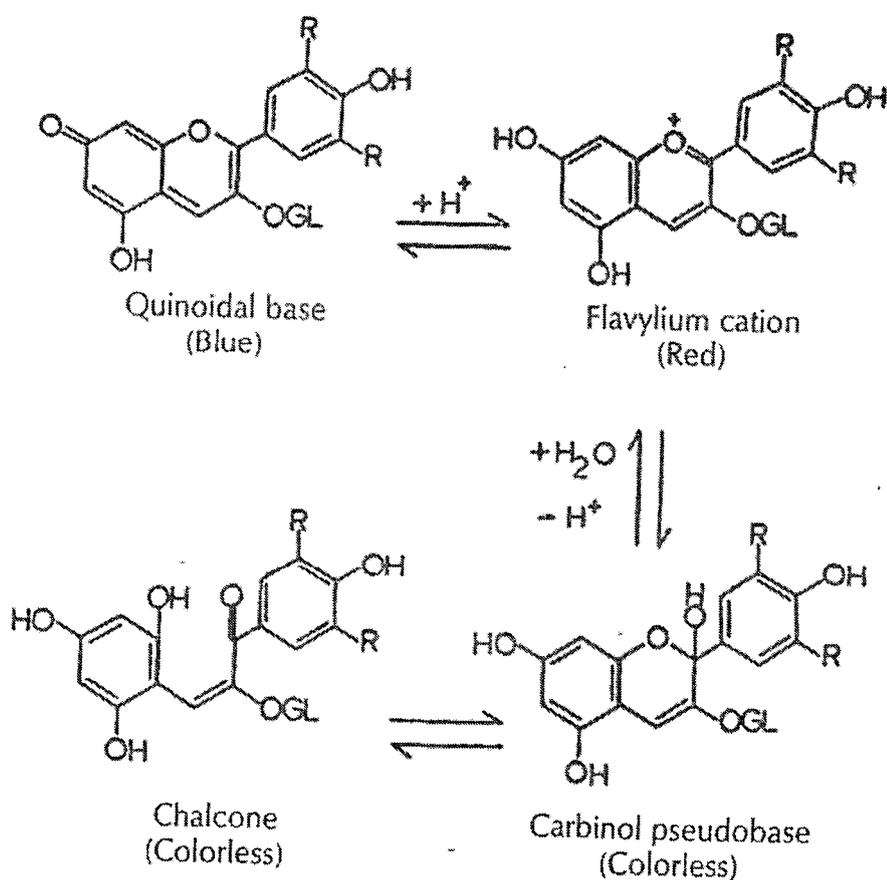
El efecto de la temperatura en la estabilidad de antocianinas en sistemas modelos y en productos alimenticios ha sido estudiado por muchos investigadores; el consenso general es que los pigmentos antocianinicos son notoriamente destruidos por el calor durante el procesamiento y almacenamiento de los alimentos, existe un incremento logarítmico con un incremento aritmético de la temperatura (Markakis, 1982). Realizó un estudio sobre estabilidad de la col morada cuando es calentada durante 5 horas, encontrando que la absorbancia de la muestra decrece significativamente durante los primeros 30 minutos, seguida por un decremento más gradual al parecer lineal.

Aun no existe un mecanismo de degradación por temperatura han postulado una hidrólisis del enlace glicosídico (posición 3) seguido por una conversión de la aglicona a chalcona, que a la vez, da como resultado una  $\alpha$ -dicetona. Una degradación mayor de la antocianina da productos con precipitados de color café (Markakis, 1982).

Cuando las soluciones de antocianinas se secan por aspersión, a temperaturas mayores a 100°C, ocurre una degradación del color, mientras que a las temperaturas por debajo de los 90°C resulta en una degradación mínima, discutieron dos posibles mecanismos para la degradación térmica de las antocianinas.

(1) hidrólisis del enlace 3-glicosídico que produce más alicano disponible.

(2) ruptura hidrolítica del anillo pirilio, que degrada a un compuesto café insoluble por su naturaleza polifenólica (Markakis, 1982).



**Figura N° 03.** Transformación estructural de las antocianinas en diversos valores de pH.

### **C. Ubicación de las antocianinas en tejidos vegetales**

Las antocianinas son pigmentos confinados en las vacuolas de células epidérmicas de hojas, flores, frutos y tallos, que desarrollan coloración azul, morada y/o rojiza de diferentes tonalidades (Markham *et al.*, 2000).

La acumulación de antocianinas en la epidermis superior o el mesófilo de las hojas, interfiere con las reacciones lumínicas de la fotosíntesis. Debido a su habilidad de absorber luz azul y reflejar luz roja, las antocianinas pueden, teóricamente, competir contra clorofilas y carotinoides. Existen evidencias en donde los pigmentos antocianos protegen a las células de los daños ocasionados por la luz UV-B, en donde el material genético se ve protegido por la acumulación de estos pigmentos (Scott, 1999).

En las plantas las antocianinas aparecen transitoriamente dentro de estados específicos del desarrollo, inducidos por un gran número de factores ambientales como la luz UV-B, bajas temperaturas y estrés por agua. La producción y localización de antocianinas en raíces, tallos y especialmente hojas ofrece una resistencia al estrés ambiental. También es conocido que las manzanas tienden a acumular pigmentos antocianos en su epidermis como una protección a la radiación UV-B (Kootstra, 1994).

En cuanto a resultados histológicos sea encontrado que en los pétalos de las plantas existe una gran intensidad de color debido a que las antocianinas tienden a acumularse alrededor de la epidermis. En muchos de los casos los pigmentos antocianos se encuentran dentro de vacuolas de células epidérmicas. Sin embargo, en ciertas especies de plantas las antocianinas se localizan discretamente en ciertas regiones de las vacuolas (Markham *et al.*, 2000).

### **D. Antocianinas como colorantes alimenticias.**

Las antocianinas se encuentran dentro de los colorantes naturales más conocidos, por ser responsables de los colores rojos y azules de gran

cantidad de frutas y vegetales, proporcionando un gran atractivo en jugos de frutas, mermeladas y conservas, por lo que constituyen una buena alternativa como colorantes alimenticios. Dentro de las posibles fuentes de antocianinas para su utilización como colorantes, se encuentran las uvas, arándanos, cranberries y algunas plantas como perilla (Francis, 1989).

Sin embargo, son poco utilizadas como colorantes en alimentos debido a que son poco estables y difíciles de purificar. Debido a su sensibilidad a los cambios de pH, el uso práctico de estos pigmentos como colorantes naturales se limita a alimentos ácidos con pH inferior a 3,5 (Francis, 1975).

#### **E. Beneficios de la antocianina**

Ejercen efectos terapéuticos conocidos que incluyen la reducción de la enfermedad coronaria, efectos antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos, además del mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo. Los efectos terapéuticos de las antocianinas están relacionados con su actividad antioxidante. Estudios con fracciones de antocianinas provenientes del vino han demostrado que estas son efectivas en atrapar especies reactivas del oxígeno, además de inhibir la oxidación de lipoproteínas y la agregación de plaquetas.

#### **F. Efectos positivos de las antocianinas sobre la salud**

Las antocianinas poseen conocidas propiedades farmacológicas utilizadas para la terapia de un amplio espectro de enfermedades. Las investigaciones realizadas con extractos de *Vitis viniferaricos* en antocianinas, han mostrado que disminuyen la fragilidad y permeabilidad capilar; también efectos antiinflamatorios y actividad anti edema. Además tienen la propiedad de proteger los vasos sanguíneos del daño ocasionado por los altos niveles de azúcar en la diabetes (Wagner, 1982).

Las antocianinas protegen de muchas maneras. Primero, neutralizan las enzimas que destruyen el tejido conectivo. Segundo, su capacidad antioxidativa previene los oxidantes del tejido conectivo dañado. Finalmente, reparan proteínas dañadas en las paredes de los vasos sanguíneos.

Por otro lado se ha observado que su potencial antioxidante va en contra de radicales su peróxidos y peróxidos de hidrógeno a través de numerosos mecanismos, por ejemplo: la cianidina: Protege la membrana celular de lípidos de la oxidación por una variedad de sustancias peligrosas. La cianidina es un antioxidante 4 veces más fuerte que la vitamina E.

La pelargonidina protege el radical amino de la tirosina del peroxinitrilo, un antioxidante altamente reactivo. Por otro lado, la del finidina interfiere con el radical hidroxil, uno de los oxidantes del cuerpo humano.

Cuando se ingieren, las antocianinas son destruidas en parte por la flora intestinal y las que son absorbidas se eliminan por la orina y la bilis, con previas transformaciones gracias a esta capacidad antioxidante, las antocianinas son catalogadas como agentes nutraceuticos. Varios trabajos reportan sus efectos benéficos al prevenir la proliferación de células cancerígenas, protección contra enfermedades del corazón y prevención del daño a lípidos de alimentos (Wrolstad, 2001).

## **G. Estabilidad de las antocianinas**

La estabilidad de las antocianinas depende de factores como enzimas, pH, temperatura, oxígeno, luz, metales, etc. (Costales, 2001).

Investigaciones recientes demostraron que existen antocianinas con ciertas características, presentando una mayor estabilidad debido al desarrollo de ciertos mecanismos:

### **1. Asociación intramolecular: acilación**

52

2. Asociación intermolecular: copigmentación
3. Interacciones con otros compuestos: polimerización (Beristáin, 2001).

#### H. Factores que afectan el color y la estabilidad de las antocianinas

Las antocianinas son relativamente inestables y a menudo sufren reacciones de degradación durante el procesamiento y almacenamiento. Dentro de los factores que determinan su estabilidad se encuentran los siguientes:

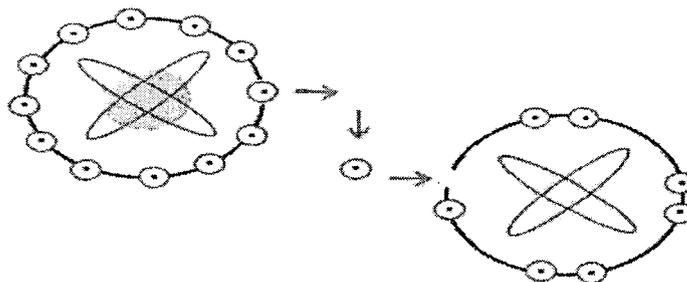
- **pH:** Los pigmentos antociánicos sufren transformaciones estructurales reversibles con un cambio en el pH. La acidez tiene un efecto protector sobre la molécula. La forma oxonio o catión flavilio colorida predomina a pH 1,0; a valores de pH más altos ocurre una pérdida del protón y adición de agua en la posición dos, dando lugar a la forma incolora hemiacetal y chalcona a pH 4,5.
- **Concentración:** El aumento en la concentración de antocianinas promueve una más alta estabilidad del color.
- **Temperatura:** Incrementos en la temperatura resultan en pérdida del azúcar glicosilante en la posición 3 de la molécula y apertura de anillo con la consecuente producción de formas incoloras.
- **Luz:** La luz afecta a las antocianinas en dos formas diferentes: la luz es esencial para la biosíntesis de antocianinas, pero también acelera su degradación. Las antocianinas preservan mucho mejor su color cuando se mantienen en la oscuridad.
- **Metales:** Las antocianinas cambian de color cuando forman complejos, quelatos o sales con iones de sodio, potasio, calcio, magnesio, estaño, hierro o aluminio.

- **Oxígeno:** El oxígeno amplifica el impacto de otros procesos de degradación de antocianinas. La remoción de oxígeno protege contra la degradación térmica.
- **Ácidos orgánicos:** Son inestables en presencia de ácido ascórbico ya que acelera su degradación.
- **Azúcares:** Los azúcares están presentes de forma natural en los alimentos, y en procesos de producción de alimentos, son nuevamente agregados. Los azúcares así como sus productos de degradación disminuyen la estabilidad de las antocianinas.
- **Enzimas:** la inactivación de enzimas, mejora la estabilidad de las antocianinas.
- **Copigmentación:** El color de las antocianinas puede ser estabilizado y enriquecido por reacciones de copigmentación. La copigmentación es un fenómeno que involucra la interacción de las antocianinas con flavonoides, polifenoles, alcaloides, aminoácidos y consigo misma, generando que el color de las antocianinas sea más intenso, brillante y estable, ya que estos compuestos las protegen de la degradación de la luz, color o pH (Giusti y Wrolstad, 2001).

#### 2.1.6. Antioxidantes

Se define como cualquier sustancia que, a bajas concentraciones en comparación con el sustrato oxidable, retrasa o inhibe significativamente la oxidación de dicho sustrato. Para lograrlo los antioxidantes entregan un electrón a los radicales libres, con lo cual los desactivan, apagando el proceso de oxidación y transformándose ellos en radicales libres inactivos o poco reactivos. La importancia de un antioxidante depende de su concentración, del medio donde actúa y de su habilidad para interactuar con sistemas regeneradores. Ciertas enfermedades como la

arterioesclerosis, degeneraciones ligadas al envejecimiento y el cáncer, podrían estar unidas al fenómeno de la oxidación celular mediada por radicales libres (Lucy y Ibáñez, 2008).



**Figura N° 04.** Neutralización del radical libre por un antioxidante.

#### A. Familias de compuestos fenólicos.

**Los flavonoides:** Dentro de este grupo de compuestos destacan tres grandes familias:

- **Antocianos:** son los compuestos responsables de la coloración roja y violeta de muchas flores, pero también del color de las uvas, manzanas, ciruelas y berries tales como las frutillas, moras, arándanos, frambuesas y maqui, entre otras muchas frutas.
- **Flavonoles:** en este grupo destacan compuestos responsables de la coloración amarilla de flores y algunos frutos, siendo abundantes en las pieles de uvas blancas y rojas, de manzanas, peras, duraznos y en la pulpa de la mayoría de los berries.
- **Flavanoles:** este grupo al que pertenecen los taninos condensados, son responsables de la defensa contra diversas enfermedades en las plantas y son abundantes en las semillas de diversas especies como la vid y en hojas como las del té (Joshua *et al.*, 2003).

### **2.1.7. Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).**

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es la técnica analítica de separación y cuantificación más usada. Las razones de su utilización son su sensibilidad, su fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, su idoneidad para automatizarla, su capacidad para separar especies no volátiles o termolábiles, pero sobre todo su amplia aplicabilidad a sustancias que son importantes en la industria, muchos cambios de la ciencia y para la sociedad en general. La cromatografía agrupa un conjunto importante y diverso de métodos que facilitan la separación, identificación y determinación de componentes estrechamente relacionados en mezclas complejas; muchas de dichas separaciones son imposibles por otros medios. En todas las separaciones cromatográficas la muestra se disuelve con una fase móvil que puede ser un gas, líquido o un fluido supercrítico, la cual se hace pasar a través de una fase estacionaria inmiscible fija en una columna o en una superficie sólida. Las dos fases se eligen de tal forma que los componentes de la muestra se distribuyen en grados distintos entre la fase móvil y la fase estacionaria. Aquellos componentes que son fuertemente retenidos por la fase estacionaria se mueven con mucha lentitud con el flujo de la fase móvil. En cambio, los componentes unidos débilmente a la fase estacionaria se mueven con rapidez. Como consecuencia de las distintas velocidades de migración, los componentes de la muestra se separan en bandas o zonas distintas que se pueden analizar en forma cualitativa y cuantitativa (Fernández *et al.*, 2008).

## **2.2. Hipótesis:**

Implícita

## **2.5. Variables de estudio**

### **2.5.1. Variable independientes**

- Índice de madurez

### 2.5.2. Variables dependiente

- Características fisicoquímicos en estado pintón y maduro.
- Concentración de antocianinas en estado pintón y maduro.

MF

## CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

### 3.1. Ámbito de estudio

Los frutos de *Lacca lacca* se recolectó del Centro Poblado de Huayanay del Distrito de Anta de la provincia de Acobamba de la Región Huancavelica, para realizar evaluación de características fisicoquímicos y concentración de antocianina presente en el fruto de *Lacca lacca* se realizó en los laboratorios de Ingeniería de Industrias Alimentarias de la UNCP.

- **Ubicación política:**

Departamento : Huancavelica

Provincia : Acobamba

Distrito : Anta

- **Ubicación geográfica:**

Latitud : 12° 43' 37"

Longitud : 74° 39' 51" del meridiano de Greenwich.

Altitud : 3 680 m.s.n.m. de la línea Ecuatorial.

- **Factores climáticos:**

Precipitación pluvial : 650 mm promedio anual.

Temperatura promedio : 12°C

Humedad relativa : 55 %.

### 3.2. Tipo de investigación:

El presente trabajo de investigación es aplicada.

### 3.3. Nivel de investigación

El tipo de investigación es descriptivo.

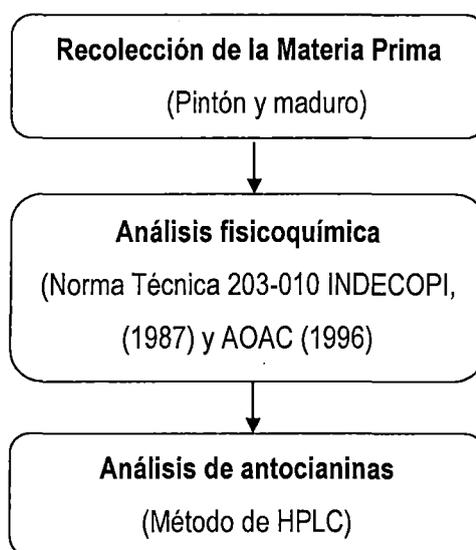
### 3.4. Método de investigación

El método que se utilizó en el presente trabajo de investigación es Deductivo – Inductivo, se analizó la características fisicoquímicos y la concentración de antocianinas. Estas particularidades se generalizarán si la composición físico química y la concentración de antocianinas varían según su estado de madurez del fruto de la *Lacca lacca*.

### 3.5. Diseño de investigación

En el trabajo de investigación se utilizó el diseño no experimental, diseño a emplear será el diseño transeccional correlacionales – causales, que pueden limitarse a establecer relaciones entre variables sin precisar sentido de causalidad ni pretender analizar relaciones de causalidad.

**Diseño no experimental:** Los diseños no experimentales recolectan datos en un solo momento, en un tiempo único. Su propósito es describir variables, y analizar su incidencia e interrelación en un momento dado. Se realizó de la siguiente manera, los análisis se realizarán mediante el método recomendado por la Norma Técnica 203-010 INDECOPI, AOAC y HPLC.



**Figura N° 05.** Pasos de diseño de investigación realizada.

### Descripción pasos de diseño de investigación realizada

- a. **Recolección de la Materia Prima:** La recolección de materia prima (*Lacca lacca*), se ha realizado en el Centro Poblado de Huayanay tanto como los frutos pintones y maduros juntos. En el laboratorio de UNCP los frutos fueron clasificados visualmente por la intensidad de su color Azul violáceo en dos grados de maduración: pintón (GM1); maduros (GM2). Una muestra aproximada de 30 g se colocó en cajas petri para medir el color con un equipo Hunter Lab Mini Scan XE Plus (Modelo 45 / O-L).
- b. **Análisis fisicoquímico:** El análisis fisicoquímico se ha realizado los siguientes características fisicoquímicos del fruto de *Lacca lacca* en estado de maduración tanto como en pintón y maduro: sólidos solubles, pH, acidez, humedad y otros en frutos frescos.
- c. **Análisis de antocianinas:** Las antocianinas presentes en el fruto de *Lacca lacca* fueron en estado de madurez pintón y maduro la cuantificación e identificación de tipo de antocianinas con el método de HPLC en frutos frescos.

### 3.6. Población, muestra, muestreo

- 3.6.1. **Población.** Se recolectó y se utilizó los frutos de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer) procedentes del Centro Poblado de Huayanay, distrito de Anta – Acobamba
- 3.6.2. **Muestra.** Se realizó separándose equivalentemente y aleatoriamente de 1 kg para cada estado de madurez del fruto.
- 3.6.3. **Muestreo.** Se realizó al zar el pesado del fruto de *Lacca lacca* con el fin de analizar los análisis respectivos en laboratorio para cada estado de madurez.

### 3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se procede a evaluar el fruto de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer), luego su análisis, para después evaluar la concentración de antocianinas.

**Cuadro N° 05:** Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

Técnicas	Instrumentos	Recolección de datos
Clasificación de la Lacca lacca.	Manualmente balanza digital	- Fruto laccalacca1400 g
Recolección de información	Libros, boletín y formatos impresos	- Antocianinas. - Concentración de antocianinas. - Determinación de antocianinas. - Características físico químicas.
Análisis de antocianinas	Método de HPLC	- Concentración de antocianinas
Análisis fisicoquímico	Método recomendado por la Norma Técnica 203-010 INDECOPI, y AOAC	- pH - Acidez - Sólidos solubles (°Brix)

**3.8. Procedimiento de recolección de datos****Cuadro N° 06:** Procedimiento de recolección de datos

Procedimiento	Recolección de datos
Análisis de concentración de antocianinas del fruto de Lacca lacca.	Resultados de laboratorio
Análisis fisicoquímicos del fruto de Lacca lacca.	Resultados de laboratorio

**3.9. Técnicas de procesamiento y análisis de datos**

La técnica de procesamiento fue mediante la estadística descriptiva.

### 3.9.1. Análisis a realizarse

Los análisis que se realizó en el desarrollo del presente trabajo de investigación se describen a continuación:

**A. Análisis físico química:** El análisis físico química de la Lacca lacca se analizó mediante el método recomendado por la Norma Técnica 203-010 INDECOPI, (1987) y AOAC (1996) como (Anexo N° 04).

- **pH:** Se determinó por medio del potenciómetro. Método recomendado por la (Norma Técnica 203-010 INDECOPI, 1987).
- **Acidez:** se determinó por titulación, según AOAC (1996).
- **Sólidos solubles:** Se determinó por medio del refractómetro. Método recomendado por la (Norma Técnica 203-010 INDECOPI, 1987).

**B. Análisis de antocianinas.** La concentración de antocianinas se determinó utilizando el método de HPLC (Anexo N° 05).

## CAPITULO IV: RESULTADOS

### 4.1. Presentación de resultado

#### 4.1.1. Análisis fisicoquímico del fruto de *Lacca lacca* en estado pintón.

En el Cuadro N° 07, se muestra los resultados de análisis de características fisicoquímicas y contenido de antocianinas en el fruto de *Lacca lacca* en estado pintón la cual contiene: humedad 80,52%, ceniza 2,09%, proteína 0,84%, grasa 1,09%, fibra 2,86%, carbohidratos 12,6%, ácido (exp. en ácido cítrico) 0,03, pH 3,56, °Brix 5,78, antocianinas 6,98 g / 100 g de muestra.

**Cuadro N° 07.** Características fisicoquímicas y contenido de antocianinas en el fruto de *Lacca lacca* en estado pintón

ANÁLISIS	RESULTADO
Humedad (%)	80.52
Ceniza (%)	2.09
Proteína (%)	0.84
Grasa (%)	1.09
Fibra (%)	2.86
Carbohidratos (%)	12.6
Acidez (Exp. en ácido cítrico)	0.03
pH	3.56
Sólidos solubles totales (%)	5.78
Antocianinas monoméricas (g / 100 g de muestra)	6.98

#### 4.1.2. Análisis fisicoquímico e identificación de antocianinas del fruto de *Lacca lacca* en estado maduro.

En el Cuadro N° 08, se muestra los resultados de análisis de características fisicoquímicas y contenido de antocianinas en el fruto de *Lacca lacca* en estado maduro la cual contiene: humedad 78,49%, ceniza 1,87%, proteína 0,90%, grasa 0,91%, fibra 2,69%, carbohidratos 15,14%, ácido (exp. en ácido cítrico) 0,042, pH 3,01, sólidos solubles 6,03%, antocianinas 7,10 g / 100 g de muestra.

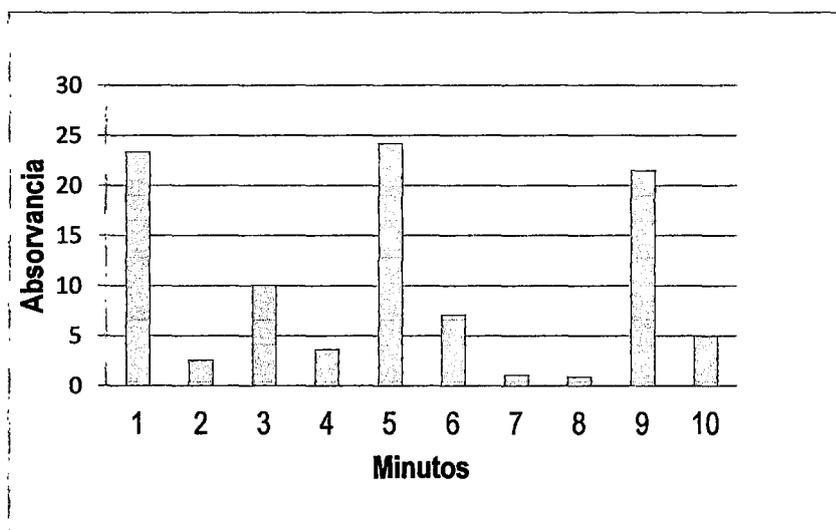
**Cuadro N° 08.** Características fisicoquímicas y contenido de antocianinas en el fruto de *Lacca lacca* en estado maduro.

ANÁLISIS	RESULTADO
Humedad (%)	78.49
Ceniza (%)	1.87
Proteína (%)	0.90
Grasa (%)	0.91
Fibra (%)	2.69
Carbohidratos (%)	15.14
Acidez (Exp. en ácido cítrico)	0.042
pH	3.01
Salidos solubles totales (%)	6.03
Antocianinas monoméricas ( g /100 g muestra)	7.10

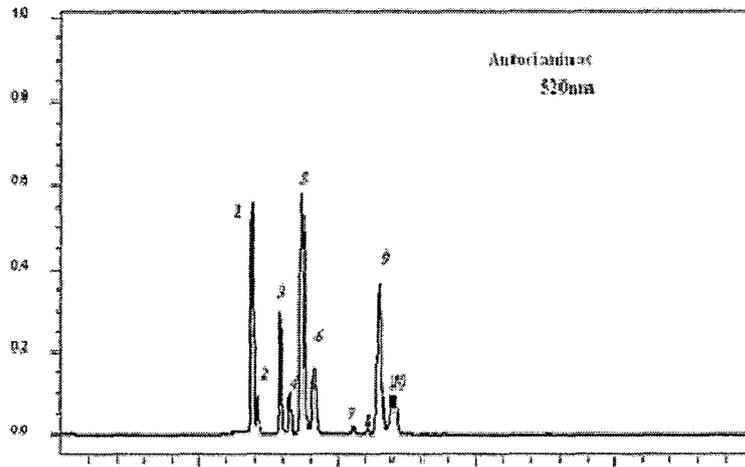
En el Cuadro N° 09, se muestra los diferentes tipos de antocianinas presentes en el fruto de *Lacca lacca* en estado maduro encontrados son: petunidina-3-glucósido 24,24%, delphinidina-3-glucósido, 23,4%, malvidina-3-glucósido 21,6%, cianidina-3-glucósido 10,18%, petunidina-3-rutinósido 7,16%, malvidina-3-rutinósido 4,97%, cianidina-3-rutinósido 3,72%, delphinidina-3-rutinósido 2,63%, peonidina-3-glucósido 1,13%, peonidina-3-rutinósido 0,97%.

**Cuadro N° 09.** Tipos de antocianinas presentes en el fruto de *Lacca lacca* en estado maduro.

TIPOS DE ANTOCIANINAS		RESULTADO
1	delfinidina-3-glucósido	23,4 %
2	delfinidina-3-rutinósido	2,63 %
3	cianidina-3-glucósido	10,18 %
4	cianidina-3-rutinósido	3,72 %
5	petunidina-3-glucósido	24,24 %
6	petunidina-3-rutinósido	7,16 %
7	peonidina-3-glucósido	1,13 %
8	peonidina-3-rutinósido	0,97 %
9	malvidina-3-glucósido	21,6 %
10	malvidina-3-rutinósido	4,97 %



**Figura N° 06:** Contenido de tipos de antocianinas en fruto de *Lacca lacca* en la cual se muestra la mayor cantidad el petunidina-3-glucósido.



**Figura N° 07:** Cromatograma desarrollado en el equipo de HPLC, en el cual se observan 10 picos importantes, que representan a las 10 antocianinas presentes en fruto de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer).

De la determinación de antocianinas por HPLC-MS/MS (Espectro de masas tandem). El pico 1, tiene un ion molecular (M) a  $m/z$  465 y un ion de fragmentación a  $m/z$  303 el cual corresponde a la delphinidina, habiendo pérdida de una masa molecular de 162, que corresponde a una unidad glucosilo, por lo que se concluye que el pico 1 corresponde a la delphinidina-3-glucósido. El pico 2, tiene un ion molecular (M) a  $m/z$  611 y evidencia de la presencia de una delphinidina a  $m/z$  303, habiendo perdida de una masa molecular de 308, lo que corresponde a la ruptura de un ramnosilo y de un glucosilo, que corresponde a la masa molecular de una rutinosa, siendo esta la delphinidina-3-rutinósido. El pico 3, mostro un ion molecular (M) a  $m/z$  449 y la presencia de una cianidina por el fragmento iónico a  $m/z$  287, habiendo perdida de una masa molecular de 162, lo que corresponde a una unidad glucosilo, identificándose la cianidina-3-glucósido. El pico 4, con un ion molecular (M) a  $m/z$  595 y un ion de fragmentación a  $m/z$  287, lo que corresponde a una cianidina, se observa la perdida de una masa molecular de 308, que corresponde a la ruptura de una unidad de ramnosilo y glucosilo, siendo la antocianina presente la cianidina-3-rutinósido. El pico 5, con un ion molecular (M) de  $m/z$  479 y un ion de fragmentación de 317 que corresponde a una

petunidina, observándose pérdida de una masa molecular de 162, identificándose la petunidina-3-glucósido. El pico 6, tiene un ion molecular (M) m/z 625 y un ion de fragmentación a m/z 317, que corresponde a la petunidina, observándose pérdida de una masa molecular de 308, correspondiendo a una rutinosa, siendo la antocianina identificada la petunidina-3-rutinósido. El pico 7, con un ion molecular (M) m/z 463 y un ion de fragmentación m/z 301 que corresponde a la peonidina, mostrando la pérdida de una masa molecular de 162, siendo la antocianina identificada la peonidina-3-glucósido. El pico 8, con un ion molecular (M) m/z 609 y un ion de fragmentación a m/z 301, que corresponde a la peonidina, habiendo una pérdida de masa molecular de 308, que corresponde a una unidad de rutinosa, siendo la antocianina presente la peonidina-3-rutinósido. El pico 9, con un ion molecular (M) m/z 493 y un ion de fragmentación a m/z 331, que corresponde a la malvidina, observándose además la pérdida de una masa molecular de 162, determinándose la malvidina-3-glucósido. El pico 10, con un ion molecular (M) m/z 639 y un ion de fragmentación m/z de 331 que corresponde a la malvidina, observándose la pérdida de una masa molecular de 308, que corresponde a una rutinosa, determinándose malvidina-3-rutinósido.

#### **4.1.3. Análisis de identificación de posición de taxonómica de la planta de *Lacca lacca*.**

En los siguiente muestra la identificación taxonómica de *Lacca lacca*, según el sistema de croquist: división es magnoliophyta, clase es magnoliopsida, orden es dipsacales, familia es caprifoliaceace, género es *Gaultheria*, especie es *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer.

Posición taxonómica de la planta de *Lacca lacca*.

<b>DIVISIÓN</b>	: Magnoliophyta
<b>CLASE</b>	: Magnoliopsida
<b>ORDEN</b>	: Dipsacales
<b>FAMILIA</b>	: Caprifoliaceace

**GENERO** : *Gaultheria*  
**ESPECIE** : *Gaultheria glomerata (Cav.) Sleumer*

#### 4.2. Discusión

##### 4.2.1. Características fisicoquímicos del fruto de *Lacca lacca (Gaultheria glomerata (Cav.) Sleumer)* en estado pintón y maduro

En el Cuadro N° 10, se observa las comparaciones de las características fisicoquímicos realizadas por Villalba *et al.* (2005) a las frutas ciruela criolla, melón criollo, mango de clase, grosella, cereza criolla, coco, chirimoya y por Ccatamayo y Valderrama (2010) lo realizaron al ayrampu; al realizar las comparaciones respectivas con el fruto de *Lacca lacca* se logró encontrar que los sólidos totales son de menor magnitud con respecto a las demás frutas, en acidez el fruto estudiado es más ácido al realizar las comparaciones respectivas de las frutas melón, mango, coco y chirimoya pero menor que las frutas de grosella y ayrampu.

**Cuadro N° 10.** Comparación fisicoquímicos del fruto del *Lacca lacca* con otras frutas.

Frutas	pH	Acidez	SST
Lacca lacca (pintón)	3,56	0,03	5,78
Lacca lacca (maduro)	3,01	0,042	6,03
Ciruela criolla*	3,06	0,52	13,6
Melón criollo*	6,01	0,09	7,33
Mango de clase*	4,21	2,23	8,26
Grosella**	2,01	3,57	5,73
Cereza criolla*	2,94	3,91	6,53
Coco*	6,13	0,32	9,73
Chirimoya*	4,58	1,3	11,8
Ayrampu**	2,5	2,35	17

**Fuente:** \*Villalba *et al.* (2005), \*\*Ccatamayo y Valderrama (2010).

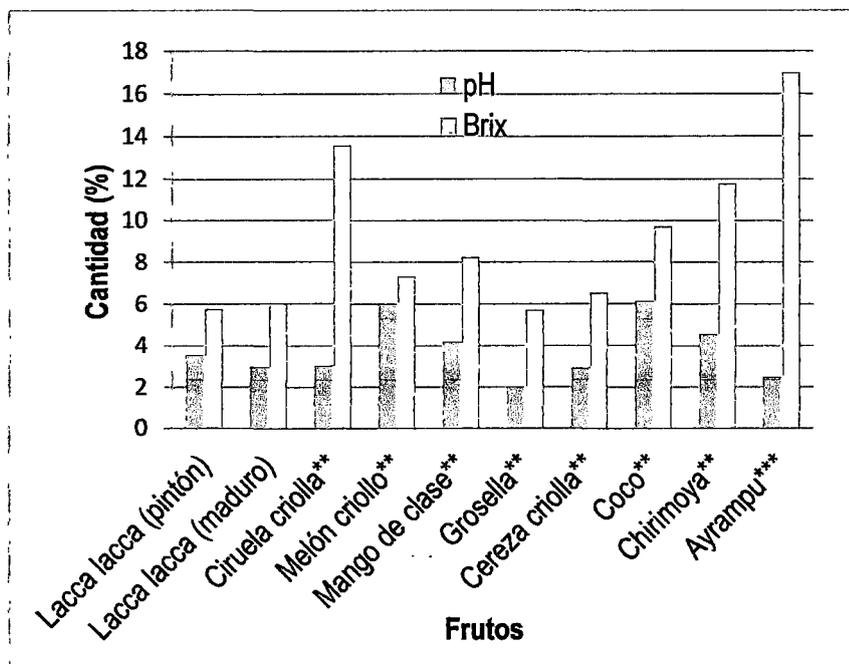


Figura N° 08. Comparación fisicoquímicos del fruto del Lacca lacca con otras frutas.

**4.2.2. Análisis químico proximal del fruto de Lacca lacca (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer) en estado pintón y maduro**

Los resultados del análisis químico proximal del fruto de Lacca lacca comparado con el resultado de análisis químico proximal del aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) y el análisis químico proximal del ayrampu se presentan en el Cuadro N° 11. Se observan que no existe mucha diferencia de compuestos químicos. Sin embargo, estas sustancias difieren ya sea por variedad.

Cuadro N° 11. Comparación fisicoquímicos del fruto del Lacca lacca con otras frutas.

Análisis	*Aguaymanto	**Ayrampu	Lacca lacca (pintón)	Lacca lacca (maduro)
Humedad	80,2	79,52	80,52	78,49
Ceniza	1,58	2,68	2,09	1,87
Proteína	0,58	1,11	0,84	0,9

Grasa	0,57	1,35	1,09	0,91
Fibra	0,6	3,08	2,86	2,69
Carbohidratos	16,47	12,63	12,6	15,14

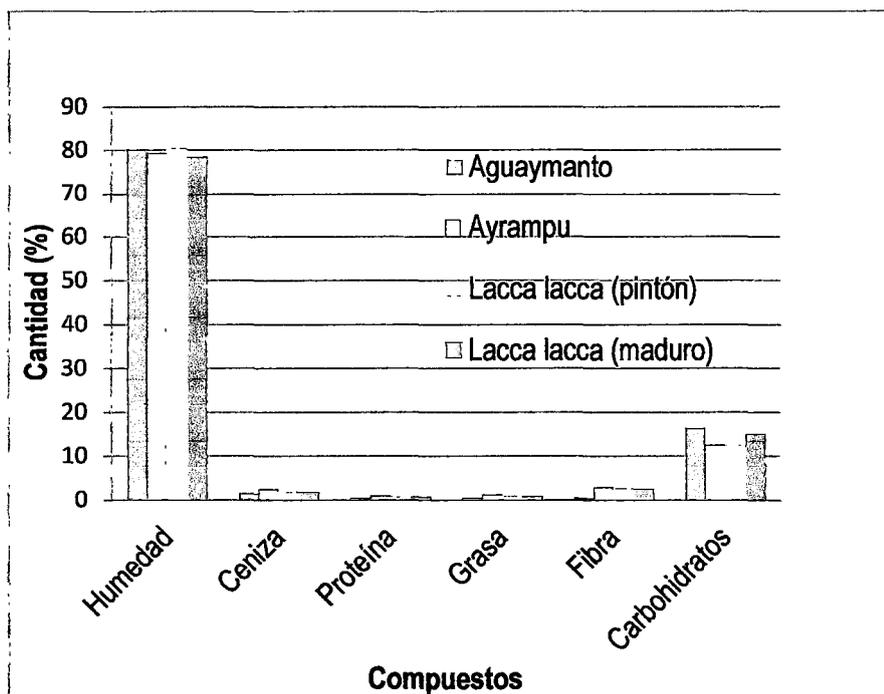


Figura Nº 09. Comparación químico proximal del fruto del Lacca lacca con otras frutas

#### 4.2.3. Cuantificación de antocianinas en el fruto de Lacca lacca (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer) en estado pintón y maduro

En el presente trabajo de investigación se obtiene una concentración de antocianinas presentes en los frutos de Lacca lacca en las siguientes concentración 6,98 g /100 g de muestra y 7,10 g /100 g de muestra en estado pintón y maduro respectivamente. El contenido de antocianinas presentes en los frutos de Lechler (*Berberis boliviana*), presenta un contenido en antocianinas monoméricas de 7 g / 100 g muestra de frutos secos separados de las semillas, estando casi puras pues las cantidades de otros componentes fenólicos son mínimas (Del Carpio *et al*, 2009). El contenido de antocianinas en diferentes bayas como: mora azul: 60 – 480, frambuesa: 20 – 220,

arándanos: 20 – 360, fresa: 10 – 80, zarzamora: 183,63 mg /100 g muestra (Rein, 2005). El contenido de antocianinas totales fue determinado mediante un método de diferencial de pH y varió de 31 a 75 mg /100 g de fruta fresca en las uvas púrpuras de las uvas de color bronce (Pastrana y Gutiérrez, 2009). El contenido de antocianinas monoméricas, determinado por el método de diferencial de pH, fue 162 mg (100 g de tejido epidermal (base cianidina-glucósido) (Ortiz *et al.*, 2009). La cual como se muestra en el Cuadro N° 12 y Figura N° 10, que al realizar las comparación el fruto de *Lacca lacca* es superior en contenido de antocianinas en mayor que otras frutas en estado maduro.

**Cuadro N° 12.** Comparación concentración de antocianinas del fruto del *Lacca lacca* con otras frutas.

Frutas	Antocianinas g / 100 g muestra
Lacca lacca (pintón)	6,98
Lacca lacca (maduro)	7,10
****Lechler	7,00
*****Ayrampu	0,30
***Uva muscadinas	0,08
**Higo	0,16
*Zarzamora	0,18
*Arándano	0,36
*Frambuesa	0,22
*Mora azul	0,48

**Fuente:** \*Rein (2005); \*\*Ortiz *et al.* (2009); \*\*\*Pastrana, Gutiérrez (2009);  
\*\*\*\*Del Carpio *et al.* (2009) y Ccatamayo y Valderrama (2010).

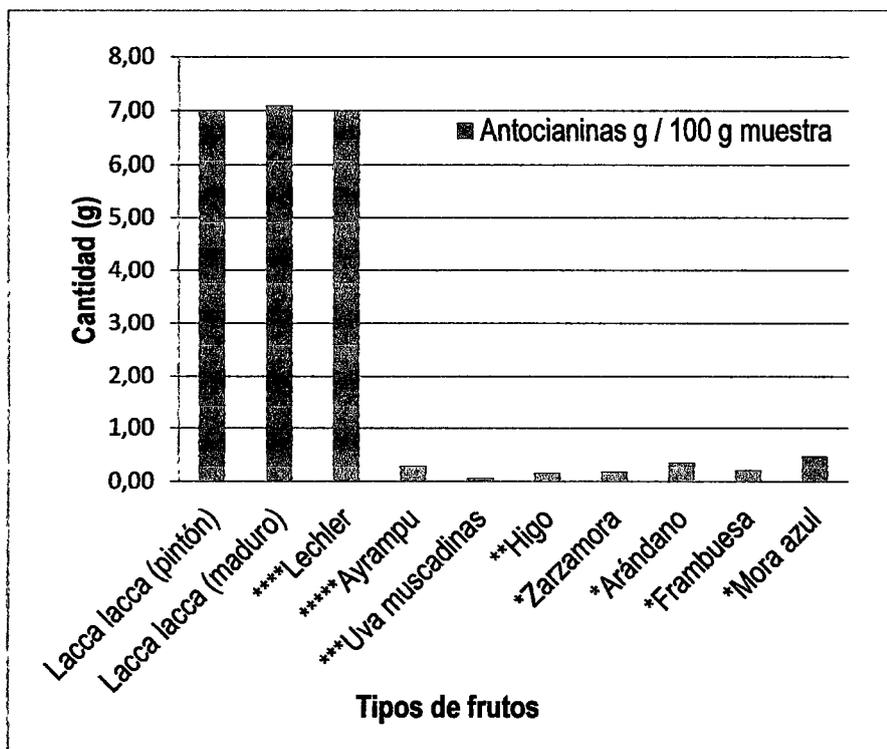


Figura Nº 10. Comparación de concentración de antocianina del fruto del Lacca lacca con otras frutas.

#### 4.2.4. Identificación de antocianinas en el fruto de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer) en estado maduro

En el presente trabajo de investigación se identificó las antocianinas presentes en frutos de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer) mediante el método de HPLC-MS/MS, la antocianina en mayor cantidad fue petunidina-3-glucósido: 24,24% en fruto maduro. Las antocianinas presentes en frutos de Lechler (*Berberis boliviana*) identificadas por HPLC-MS/MS (espectro de masas tándem) en mayor cantidad a diferencia de otros es petunidina-3-glucósido: 24,21% (Del Carpio *et al.*, 2009). Acuerdo al resultado el fruto de *Lacca lacca* contiene en mayor cantidad de petunidina-3-glucósido que el fruto Lechler y los otros frutos en todo su contenido de antocianinas.

**Cuadro N° 13.** Comparación de antocianinas del fruto del *Lacca lacca* con otras frutas.

ANTOCIANINAS	Frutas (mg /100 g de muestra)		
	Lacca lacca	*Lechler	**Higo
delfinidina-3-glucósido	1,66	0,35	0,00
delfinidina-3-rutinósido	0,19	0,04	0,00
cianidina-3-glucósido	0,72	0,15	0,00
cianidina-3-rutinósido	0,26	0,06	0,00
petunidina-3-glucósido	1,72	0,36	0,00
petunidina-3-rutinósido	0,51	0,11	0,00
peonidina-3-glucósido	0,08	0,02	0,00
peonidina-3-rutinósido	0,07	0,01	0,00
malvidina-3-glucósido	1,53	0,32	0,00
malvidina-3-rutinósido	0,35	0,07	0,00
cianidina	0,00	0,00	0,16

21

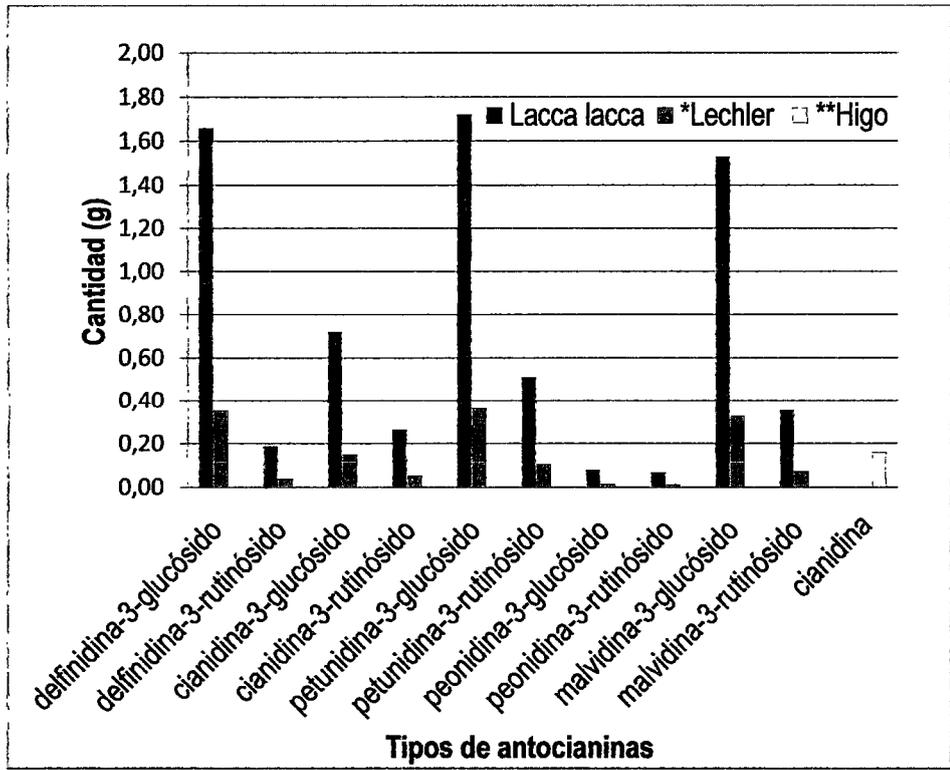


Figura N° 11. Comparación de antocianina del fruto del Lacca lacca con otras frutas

## CONCLUSIONES

- El análisis fisicoquímico mostró que en estado pintón, el fruto de *Lacca lacca*, contiene: humedad 80,52%, ceniza 2,09%, proteína 0,84%, grasa 1,09%, fibra 2,86%, carbohidratos 12,6%, ácido (exp. en ácido cítrico) 0,03, pH 3,56 y sólidos solubles 5,78%. En cambio en estado maduro, contiene: humedad 78,49%, ceniza 1,87%, proteína 0,90%, grasa 0,91%, fibra 2,69%, carbohidratos 15,14%, ácido (exp. en ácido cítrico) 0,042, pH 3,01 y sólidos solubles 6,03%.
- El análisis de la antocianinas, por el método de pH diferencial, determinó un alto contenido de antocianinas que fue de 7,10 g /100 g en el tejido del fruto fresco en estado maduro a pH de 3,01 y de 6,98 g /100 g en el tejido del fruto fresco en estado pintón a un pH de 3,56.
- El análisis por el método HPLC – MS/MS, confirmó diez tipos de antocianinas presentes en fruto de *Lacca lacca* y su porcentaje de participación en las antocianinas totales, los cuales fueron: petunidina-3-glucósido (24,24%), delphinidina-3-glucósido (23,4%), malvidina-3-glucósido (21,6%), cianidina-3-glucósido (10,18%), petunidina-3-rutinósido (7,16%), malvidina-3-rutinósido (4,97%), cianidina-3-rutinósido (3,72%), delphinidina-3-rutinósido (2,63%), peonidina-3-glucósido (1,13%) y peonidina-3-rutinósido (0,97%).
- De los seis tipos de antocianinas de interés de uso agroindustrial se ha encontrado cinco tipos de antocianinas en el fruto de *Lacca lacca* de las cuales son: cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina y malvidina, por tal motivo el fruto es importante fuente de antocianinas de uso agroindustrial.

- La identificación taxonómica de la planta de *Lacca lacca* en el presente trabajo de investigación se ha determinado según el sistema de Croquist que pertenece a la división es Magnoliophyta, clase Magnoliopsida, orden Dipsacales, familia Caprifoliaceae, género es *Gaultheria*, especie es *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer.

## RECOMENDACIONES

- Evaluar las propiedades funcionales y la toxicología del fruto de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer).
- Realizar la extracción de antocianinas con diferentes métodos del fruto de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer) para su uso agroindustrial.
- Investigar y desarrollar nuevos productos derivados del fruto de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer), para la alimentación, uso cosmético, entre otros.

## REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Badui, S. (2006). Química de alimentos. México: Alhambra Mexicana.
- Badui, S. (1987). Química de los Alimentos. México: Longman de México.
- Beristáin, G. (2001). Factures que afectan los colorantes. Factures químicos, 15.
- Burgos, A., Padilla, G. y Arrázola, G. (2007). Determinación de las características químicas, físicas y organolépticas del fruto de grosella (*Phyllanthus acidus L.*). Córdoba: Ciénaga de Oro.
- Ccatamayo, G. y Valderrama, V. (2010). Aprovechamiento agroindustrial del ayrampu (*Berberis* sp.) en el procesamiento de una bebida funcional para la seguridad alimentaria. Artículo científico – UNH – FAO. [www.riic.fao.org/es/publicaciones](http://www.riic.fao.org/es/publicaciones). 15.
- Charley, A. (1982). Estabilidad de antocianinas. 15-25.
- Coultate, R. (1984). The chemistry of its components. London: The Royal Society of Chemistry.
- De Lorgeril, M., Salne, P., Martin, J., Monjaud, I., Delaye, J. y Mamelle, N. (1999). Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction (Vol. 6). Circulation: final report of the Lyon Diet Heart Study.
- Del Carpio, *et al.* (2009). Caracterización de las antocianinas de los frutos de *Berberis boliviana* Lechler. Rev Soc Quím Perú.
- Fennema, O. (2000). Química de Alimentos (2da Ed.). España, Zaragoza: Acribia S.A.
- Fennema, O. (1993). Química de los Alimentos. España, Zaragoza: Acribia, S. A.

- Fernández, A., Lozada, K. y Costilla, N. (2008). Determinación del contenido de la concentración de Retinol en la muestra. Departamento de Química- Universidad Nacional de Trujillo, 14.
- Francis, F. (1975). Anthocyanins as Food Colors. Food Technology, 44-66.
- Francis, F. (1989). Food Colorants: Anthocyanins. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 273 – 301.
- Gallo, E. (2006). Carotenoides, fenoles totales y actividad antioxidante en el aguaymanto (*Physalis peruviana L.*). Ayacucho: Tesis Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga.
- Giusti, M. y Wrolstad, E. (2001). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. Current Protocols: in Food Analytical Chemistry.
- Gross, J. (1987). Pigments in fruits. London: Academic press.
- Joshua, D., Lambert, S. y Chung, S. (2003). Antioxidantes. Cancer chemopreventive activity and bioavailability of tea and tea polyphenols, 54.
- Kato, H., Tillotson, J., Nichaman, M., Rhoads, G. y Hamilton, H. (1973). Epidemiologic studies of coronary heart disease and stroke in Japanese men living in Japan (Vol. 6). Japan, Hawaii and California: Am. J. Epidemiol.
- Kootstra, A. (1994). Protection from UV-B-induced DNA damage by flavonoids. Plant Molecular Biology, 771-774.
- Kris-Etherton, P., Lefevre, M., Beecher, G., Gross, M., Keen, C. y Etherton, T. (2004). Bioactive compounds in nutrition and health-research methodologies for establishing. Biological function: The Antioxidant and Anti-inflammatory Effects of Flavonoids. Annual Review of Nutrition.
- Lucy, A. y Ibáñez, D. (2008). Capacidad antioxidante de plantas medicinales. USA, 64.

- Markakis, P. (1982). Anthocyanins as Foods Colors. USA: Academic Press.
- Markham, G., Winefield, K. y Bloor, S. (2000). Anthocyanic vacuolar inclusions their nature and significance in flower colouration. *Phytochemistry*, 327-336.
- Ortíz, A., Guzmán, A., Díaz, G. y Brenes, H. (2009). Caracterización y estabilidad de antocianinas de higo, variedad Mission. *Publicaciones / uciencia*, 8.
- Pastrana, E. y Gutiérrez, N. (2009). Identificación y cuantificación de antocianinas en uvas muscadinas por cromatografía líquida y espectrometría de masas. Estados Unidos: Universidad Surcolombiana.
- Rein, M. (2005). Copigmentation Reactions and Color Stability of Berry Anthocyanins. University of Helsinki: Department of Applied Chemistry and Microbiology.
- Scott, L. (1999). Environmental Significance of Anthocyanins in Plant Stress Responses. *Photochemistry and Photobiology*, 1-9.
- Terry, P., Hu, F., Hansen, H. y Wolk, A. (2001). Prospective study of major dietary patterns and colorectal cancer risk in women. *Epidemiol.*
- Villalba, M., Yepes, I. y Arrázola, G. (2005). Caracterización fisicoquímica de frutas de la zona del sinu para su agroindustrialización. *Temas agrarios*, 09.
- Wagner, G. (1982). Cellular and subcellular localization in plant metabolism (Vol. 16). New York and London: Plenum Press.
- Wrolstad, E. (2001). Extraction, Isolation, and Purification of Anthocyanins. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 23-45.
- Wrolstad, R. (2004). Anthocyanin Pigments-bioactivity and Coloring Properties (Vol. 5). *J FoodSci.*

## ARTICULO CIENTÍFICO

### Caracterización fisicoquímico y concentración de antocianinas en el fruto de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer)

### Physicochemical characterization and concentration of anthocyanins in the fruit of *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer)

Roman Sotacuro De la cruz

#### RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar las características fisicoquímicas y el contenido de antocianinas del fruto de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer), la cual es una especie, aún, silvestre del Perú, que pertenece a la familia *Caprifoliaceae*; y cuyas potencialidades hasta ahora se desconocían. El análisis de la pigmentación, por método de pH diferencial, determinó una alta presencia de antocianinas, y fue de 7,10 g /100 g en el tejido del fruto en estado maduro con pH de 3,01 y 6,98 g /100 g en el tejido del fruto en estado pintón con un pH de 3,56. El análisis por el método HPLC – MS/MS, confirmó la presencia de 10 picos y los pesos moleculares permitieron conocer las antocianinas presentes en *Lacca lacca* y su porcentaje de participación de las antocianinas totales, los cuales fueron: petunidina-3-glucósido (24,24%), delphinidina-3-glucósido (23,4%), malvidina-3-glucósido (21,6%), cianidina-3-glucósido (10,18%), petunidina-3-rutinósido (7,16%), malvidina-3-rutinósido (4,97%), cianidina-3-rutinósido (3,72%), delphinidina-3-rutinósido (2,63%), peonidina-3-glucósido (1,13%) y péonidina-3-rutinósido (0,97%). El análisis fisicoquímico mostró que en estado pintón, el fruto de *Lacca lacca*, contiene: humedad 80,52%, ceniza 2,09%, proteína 0,84%, grasa 1,09%, fibra 2,86%, carbohidratos 12,6%, ácido (exp. en ácido cítrico) 0,03, pH 3,56 y sólidos solubles 5,78%. En cambio en estado maduro, contiene: humedad 78,49%, ceniza 1,87%, proteína 0,90%, grasa 0,91%, fibra 2,69%, carbohidratos 15,14%, ácido (exp. en ácido cítrico) 0,042, pH 3,01 y sólidos solubles 6,03%.

**Palabras clave:** Caracterización, antocianinas, *Lacca lacca*, HPLC – MS/MS

## ABSTRACT

The present investigation was to determine the physicochemical characteristics and anthocyanin content of the fruit of *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer), which is a kind, still wild in Peru, which belongs to the family Caprifoliaceae, and whose potential until now was unknown. Pigment analysis by differential pH method, found a high presence of anthocyanins, and was 7.10 g / 100 g tissue fresh fruit when ripe with pH of 3.01 and 6.98 g / 100 g fresh fruit tissue pintón state with a pH of 3.56. The analysis by HPLC method - MS / MS confirmed the presence of 10 peaks and the molecular weights allowed to know the anthocyanins present in *Lacca lacca* and its percentage share of total anthocyanins, which were: petunidin-3-glucoside (24, 24%), delphinidin-3-glucoside (23.4%), malvidin-3-glucoside (21.6%), cyanidin-3-glucoside (10.18%), petunidin-3-rutinoside (7.16%), malvidin-3-rutinoside (4.97%), cyanidin-3-rutinoside (3.72%), delphinidin-3-rutinoside (2.63%), peonidin-3-glucoside (1.13%) and peonidin-3-rutinoside (0.97%). Physicochemical analysis showed that pintón state, the fruit of *Lacca lacca* contains: moisture 80.52%, ash 2.09%, 0.84% protein, 1.09% fat, 2.86% fiber, carbohydrates 12.6%, acid (citric acid exp.) 0.03, pH 3.56 and 5.78% soluble solids. Instead when ripe, contains: moisture 78.49%, ash 1.87%, 0.90% protein, 0.91% fat, 2.69% fiber, carbohydrates 15.14%, acid (acid exp. citric) 0.042, pH 3.01 and 6.03% soluble solids.

**Keywords:** Characterization, anthocyanins, *Lacca lacca*, HPLC - MS / MS

## INTRODUCCIÓN

Las antocianinas pertenecen a un gran y muy distribuido grupo de metabolitos secundarios, que se conocen colectivamente como flavonoides. Las antocianinas son los componentes que otorgan a las plantas colores rojos, azules, morados, particularmente en partes como frutos, flores y hojas. Estos pigmentos fueron consumidos por los hombres a lo largo de incontables generaciones sin causar aparentemente ningún efecto tóxico. El interés por las antocianinas se ha incrementado debido a su potencial uso como colorantes naturales y por sus potenciales beneficios en la salud. Últimamente, la seguridad de los pigmentos sintéticos ha sido cuestionada, conduciendo a la reducción en el número de colorantes permitidos. Las antocianinas son pigmentos solubles en agua, lo que facilita su incorporación en los sistemas acuosos alimentarios. Estas cualidades hacen que estos colorantes naturales sean atractivos como pigmentos naturales inocuos con considerable potencial en la industria de los alimentos en productos con un rango de pH ácido. Además de su color, se ha reportado que las antocianinas

22

tienen beneficios para la salud como potentes antioxidantes y pueden incrementar la agudeza visual. Se ha observado también que poseen actividad antineoplásica, vasotónica, vasoprotectora, anti - inflamatoria y hepatoprotectora. En el Perú existen muchas especies silvestres, una de ellas es *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer), que crece especialmente alrededor de los campos de cultivo a manera de protección, debido a sus hojas grandes y no tiene espinas, sus flores son rosadas y sus frutos morados. Asimismo, algunas tradiciones orales, sugieren que estos frutos eran usados por las nuestras durante el Incanato para lavar y cuidar sus cabellos a manera de un champú colorante natural.

## MATERIALES Y MÉTODOS

- A. Recolección de la Materia Prima:** La recolección de materia prima (*Lacca lacca*), se ha realizado en el Centro Poblado de Huayanay tanto como los frutos pintones y maduros juntos. En el laboratorio de UNCP los frutos fueron clasificados visualmente por la intensidad de su color Azul violáceo en dos grados de maduración: pintón (GM1); maduros (GM2). Una muestra aproximada de 30 g se colocó en cajas petri para medir el color con un equipo Hunter Lab Mini Scan XE Plus (Modelo 45 / O-L).
- B. Análisis fisicoquímico:** El análisis fisicoquímico se ha realizado los siguientes características fisicoquímicos del fruto de *Lacca lacca* en estado de maduración tanto como en pintón y maduro: sólidos solubles, pH, acidez, humedad y otros en frutos frescos.
- C. Análisis de antocianinas:** Las antocianinas presentes en el fruto de *Lacca lacca* fueron en estado de madurez pintón y maduro la cuantificación e identificación de tipo de antocianinas con el método de HPLC y pH diferencial de los frutos.

## RESULTADOS

### **Análisis fisicoquímico e identificación de antocianinas del fruto de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer) en estado pintón.**

En el Cuadro N° 01, se muestra los resultados de análisis de características fisicoquímicos y contenido de antocianinas en el fruto de *Lacca lacca* en estado pintón la cual contiene: humedad 80,52%, ceniza 2,09%, proteína 0,84%, grasa 1,09%, fibra 2,86%, carbohidratos 12,6%, ácido (exp. en ácido cítrico) 0,03, pH 3,56, °Brix 5,78, antocianinas 6,98 g / 100 g de muestra.

21

**Cuadro N° 01.** Características fisicoquímicos y contenido de antocianinas en el fruto de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer) en estado pintón

ANÁLISIS	RESULTADO
Humedad (%)	80,52
Ceniza (%)	2,09
Proteína (%)	0,84
Grasa (%)	1,09
Fibra (%)	2,86
Carbohidratos (%)	12,6
Acidez (Exp. en ácido cítrico)	0,03
pH	3,56
Sólidos solubles totales (%)	5,78
Antocianinas monoméricas (g /100 g de muestra)	6,98

**Análisis fisicoquímico e identificación de antocianinas del fruto de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer) en estado maduro.**

En el Cuadro N° 02, se muestra los resultados de análisis de características fisicoquímicos y contenido de antocianinas en el fruto de *Lacca lacca* en estado maduro la cual contiene: humedad 78,49%, ceniza 1,87%, proteína 0,90%, grasa 0,91%, fibra 2,69%, carbohidratos 15,14%, ácido (exp. en ácido cítrico) 0,042, pH 3,01, sólidos solubles 6,03%, antocianinas 7,10 g / 100 g de muestra.

**Cuadro N° 02.** Características fisicoquímicos y contenido de antocianinas en el fruto de *Lacca lacca* en estado maduro.

ANÁLISIS	RESULTADO
Humedad (%)	78,49
Ceniza (%)	1,87
Proteína (%)	0,90
Grasa (%)	0,91
Fibra (%)	2,69
Carbohidratos (%)	15,14
Acidez (Exp. en ácido cítrico)	0,042
pH	3,01
Sólidos solubles totales (%)	6,03

Antocianinas monoméricas (g / 100 g muestra)	7,10
--	------

En el Cuadro N° 03, se muestra los diferentes tipos de antocianinas presentes en el fruto de *Lacca lacca* en estado maduro encontrados son: petunidina-3-glucósido 24,24%, delphinidina-3-glucósido, 23,4%, malvidina-3-glucósido 21,6%, cianidina-3-glucósido 10,18%, petunidina-3-rutinósido 7,16%, malvidina-3-rutinósido 4,97%, cianidina-3-rutinósido 3,72%, delphinidina-3-rutinósido 2,63%, peonidina-3-glucósido 1,13%, peonidina-3-rutinósido 0,97%.

**Cuadro N° 03.**Tipos de antocianinas presentes en el fruto de *Lacca lacca* en estado maduro.

TIPOS DE ANTOCIANINAS		RESULTADO
1	delfinidina-3-glucósido	23,4 %
2	delfinidina-3-rutinósido	2,63 %
3	cianidina-3-glucósido	10,18 %
4	cianidina-3-rutinósido	3,72 %
5	petunidina-3-glucósido	24,24 %
6	petunidina-3-rutinósido	7,16 %
7	peonidina-3-glucósido	1,13 %
8	peonidina-3-rutinósido	0,97 %
9	malvidina-3-glucósido	21,6 %
10	malvidina-3-rutinósido	4,97 %

**Análisis de identificación de posición de taxonómica de la planta de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer).**

En los siguiente muestra la identificación taxonómica de *Lacca lacca*, según el sistema de croquist: división es magnoliophyta, clase es magnoliopsida, orden es dipsacales, familia es caprifoliaceace, género es *Gaultheria*, especie es *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer.

Posición taxonómica de la planta de *Lacca lacca*.

<b>DIVISIÓN</b>	: Magnoliophyta
<b>CLASE</b>	: Magnoliopsida
<b>ORDEN</b>	: Dipsacales
<b>FAMILIA</b>	: Caprifoliaceace
<b>GENERO</b>	: <i>Gaultheria</i>
<b>ESPECIE</b>	: <i>Gaultheria glomerata</i> (Cav.) Sleumer

## CONCLUSIONES

- El análisis fisicoquímico mostró que en estado pintón, el fruto de *Lacca lacca*, contiene: humedad 80,52%, ceniza 2,09%, proteína 0,84%, grasa 1,09%, fibra 2,86%, carbohidratos 12,6%, ácido (exp. en ácido cítrico) 0,03, pH 3,56 y sólidos solubles 5,78%. En cambio en estado maduro, contiene: humedad 78,49%, ceniza 1,87%, proteína 0,90%, grasa 0,91%, fibra 2,69%, carbohidratos 15,14%, ácido (exp. en ácido cítrico) 0,042, pH 3,01 y sólidos solubles 6,03%.
- El análisis de la antocianinas, por el método de pH diferencial, determinó un alto contenido de antocianinas que fue de 7,10 g /100 g en el tejido del fruto fresco en estado maduro a pH de 3,01 y de 6,98 g /100 g en el tejido del fruto fresco en estado pintón a un pH de 3,56.
- El análisis por el método HPLC – MS/MS, confirmó diez tipos de antocianinas presentes en fruto de *Lacca lacca* y su porcentaje de participación en las antocianinas totales, los cuales fueron: petunidina-3-glucósido (24,24%), delphinidina-3-glucósido (23,4%), malvidina-3-glucósido (21,6%), cianidina-3-glucósido (10,18%), petunidina-3-rutinósido (7,16%), malvidina-3-rutinósido (4,97%), cianidina-3-rutinósido (3,72%), delphinidina-3-rutinósido (2,63%), peonidina-3-glucósido (1,13%) y peonidina-3-rutinósido (0,97%).
- La identificación taxonómica de la planta de *Lacca lacca* en el presente trabajo de investigación se ha determinado según el sistema de Croquist que pertenece a la división es Magnoliophyta, clase Magnoliopsida, orden Dipsacales, familia Caprifoliaceae, género es *Gaultheria*, especie es *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer.

## REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

Esta citada en la página de 59.

**ANEXO**



17

## CONSTANCIA N° 033 – USM – 2012

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (completa) recibida de **RAFAEL JULIAN MALPARTIDA YAPIAS**, ha sido estudiada y clasificada como: *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer, y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

**DIVISION:** MAGNOLIOPHYTA

**CLASE:** MAGNOLIOPSIDA

**ORDEN:** DIPSACALES

**FAMILIA:** CAPRIFOLIACEAE

**GENERO:** *Gaultheria*

**ESPECIE:** *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer

Nombre vulgar: Familia de la macha macha  
Determinada por: Blgo. Severo Baldeón M.

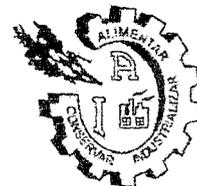
Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Lima, 19 de marzo de 2012



  
Dra. Haydee Montoya Terreros  
Jefa del Herbario San Marcos  
(USM)

DDB



# CERTIFICACIÓN DE CALIDAD

SERVICIOS DE LABORATORIO Y ASISTENCIA TÉCNICA; INSPECCIÓN Y ANÁLISIS

CIUDAD UNIVERSITARIA - AUTOPISTA RAMIRO PRIALÉ KM. 5 - TELF: 248152 Anexo 214 Telefax: 235981  
Http://www.uncp.edu.pe

## INFORME DE ENSAYO N° 0012/2013 - LCC - UNCP

SOLICITANTE : SOTACURO DE LA CRUZ ROMAN  
DIRECCIÓN : ACOBAMBA - HCVA.

EL LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD DE LA FACULTAD DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO DEL PERU; CERTIFICA HABER RECEPCIONADO Y ANALIZADO UNA MUESTRA PROPORCIONADA POR EL SOLICITANTE, CONSISTENTE EN:

PRODUCTO : FRUTO LACCA LACCA  
ESPECIE : Gaultheria glomerata (Cav.) Sieumer  
ENVASE : BOLSA DE POLIETIELNO x 300g.  
TAMAÑO DE MUESTRA : 2 UNIDADES  
FECHA DE RECEPCION DE MUESTRA : 25/03/13  
FECHA DE TÉRMINO DE ENSAYO : 04/04/13  
SOLICITUD DE SERVICIO : N° 0012-2013  
IDENTIFICACION DE LA MUESTRA : PINTON

### RESULTADOS:

#### 1. ANALISIS FISICOQUIMICO:

ANALISIS	RESULTADO
Humedad (%)	80.52
Ceniza (%)	2.09
Proteína (%)	0.64
Grasa (%)	1.09
Fibra (%)	2.86
Carbohidratos	12.6
Acidez (Exp. en acido cítrico)	0.03
pH	3.56
°brix	5.78
Antoxianinas monoméricas (g/100gmuestra)	6.98

#### MÉTODO DE ENSAYO:

1. HUMEDAD : REF. NTP N° 205.002.1978  
2. GRASA : REF. NTP N° 205.006.1980  
3. PROTEINA : AOAC, 1980  
4. CENIZA : REF. NTP N° 205.004.1979  
5. FIBRA : REF. NTP N° 205.003.1980  
6. ACIDEZ  
7. pH : AOAC, 2000  
8. ANTOXIANINAS TOTALES : AOAC, 2000

LOS RESULTADOS SE RESTRINGEN A LA MUESTRA EVALUADA DESCONOCIÉNDOSE LAS CONDICIONES DE LA TOMA DE MUESTRA, CONSERVACIÓN, ASI COMO SU REPRESENTATIVIDAD PARA EL LOTE DETERMINADO  
LOS ANALISIS REALIZADOS FUERON SOLICITADOS EN FORMA ESPECIFICA POR EL INTERESADO.

#### ADVERTENCIA:

EL PRESENTE INFORME DE ENSAYO TIENE VIGENCIA 90 DIAS A PARTIR DE LA FECHA DE EMISIÓN, APLICABLE SOLO A LA MUESTRA. LA CORRECCIÓN O ENMIENDA DEL DOCUMENTO ANULA AUTOMÁTICAMENTE SU VALIDEZ Y CONSTITUYE UN DELITO CONTRA LA FE PUBLICA Y EL INFRACTOR ES SUJETO DE SANCIONES CIVILES Y PENALES POR DISPOSITIVOS LEGALES VIGENTES. PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL DEL PRESENTE INFORME DE ENSAYO. LA MUESTRA PARA DIRIMENCIA DE ESTOS PRODUCTOS SE ALMACENARAN POR 90 DIAS.

HUANCAYO, CIUDAD UNIVERSITARIA, 04 DE ABRIL DEL 2013.





15

# CERTIFICACIÓN DE CALIDAD

SERVICIOS DE LABORATORIO Y ASISTENCIA TÉCNICA; INSPECCIÓN Y ANÁLISIS

CIUDAD UNIVERSITARIA - AUTOPISTA RAMIRO PRIALÉ KM. 5 - TELF: 248152 Anexo 214 Telefax: 235981

Http://www.uncp.edu.pe

## INFORME DE ENSAYO N° 0012/2013 - LCC - UNCP

SOLICITANTE : SOTACURO DE LA CRUZ ROMAN  
DIRECCIÓN : ACOBAMBA - HCVA.

EL LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD DE LA FACULTAD DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO DEL PERU; CERTIFICA HABER RECEPCIONADO Y ANALIZADO UNA MUESTRA PROPORCIONADA POR EL SOLICITANTE, CONSISTENTE EN:

PRODUCTO : FRUTO LACCA LACCA  
ESPECIE : Gaultheria glomerata (Cav.) Sleumer  
ENVASE : BOLSA DE POLIETILENO x 300g.  
TAMAÑO DE MUESTRA : 2 UNIDADES  
FECHA DE RECEPCION DE MUESTRA : 25/03/13  
FECHA DE TÉRMINO DE ENSAYO : 04/04/13  
SOLICITUD DE SERVICIO : N° 0012-2013.

DATOS DECLARADOS POR EL SOLICITANTE  
IDENTIFICACION DE LA MUESTRA : MADURO



### RESULTADOS:

#### 1. ANALISIS FISICOQUIMICO:

ANÁLISIS	RESULTADO
Humedad (%)	78.49
Ceniza (%)	1.87
Proteína (%)	0.90
Grasa (%)	0.91
Fibra (%)	2.69
Carbohidratos	15.14
Acidez (Exp. en ácido cítrico)	0.042
Ph	3.01
°brix	6.03
Antocianinas monoméricas (g/100g de muestra)	7.10

#### 2. ANALISIS DE IDENTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS:

TIPOS DE ANTOCIANINAS	RESULTADO
delfinidina-3-glucósido	23.4 %
delfinidina-3-rutinósido	2.63 %
cianidina-3-glucósido	10.18 %
cianidina-3-rutinósido	3.72 %
petunidina-3-glucósido	24.24 %
petunidina-3-rutinósido	7.16 %
peonidina-3-glucósido	1.13 %
peonidina-3-rutinósido	0.97 %
malvidina 3 glucósido	21.6 %
malvidina-3-rutinósido	4.97 %



# CERTIFICACIÓN DE CALIDAD

SERVICIOS DE LABORATORIO Y ASISTENCIA TÉCNICA; INSPECCIÓN Y ANÁLISIS

CIUDAD UNIVERSITARIA - AUTOPISTA RAMIRO PRIALÉ KM. 5 - TELF: 248152 Anexo 214 Telefax: 235981  
Http://www.uncp.edu.pe

## INFORME DE ENSAYO Nº 0012/2013 - LCC - UNCP

**MÉTODO DE ENSAYO:**

- |  |                            |
|--|----------------------------|
| 1. HUMEDAD                               | : REF. NTP Nº 205.002.1979 |
| 2. GRASA                                 | : REF. NTP Nº 205.006.1980 |
| 3. PROTEÍNA                              | : AOAC, 1990               |
| 4. CENIZA                                | : REF. NTP Nº 206.004.1979 |
| 5. FIBRA                                 | : REF. NTP Nº 205.003.1980 |
| 6. ACIDEZ                                | : AOAC, 2000               |
| 7. pH                                    | : AOAC, 2000               |
| 8. ANTIOXIANINAS TOTALES                 | : AOAC, 2000               |
| 9. HPLC-MS/MS (ESPECTRO DE MASAS TANDEM) | : AOAC, 2000               |

LOS RESULTADOS SE RESTRINGEN A LA MUESTRA EVALUADA DESCONOCIÉNDOSE LAS CONDICIONES DE LA TOMA DE MUESTRA, CONSERVACIÓN, ASÍ COMO SU REPRESENTATIVIDAD PARA EL LOTE DETERMINADO  
LOS ANÁLISIS REALIZADOS FUERON SOLICITADOS EN FORMA ESPECÍFICA POR EL INTERESADO.

**ADVERTENCIA:**

EL PRESENTE INFORME DE ENSAYO TIENE VIGENCIA 90 DÍAS A PARTIR DE LA FECHA DE EMISIÓN, APLICABLE SOLO A LA MUESTRA. LA CORRECCIÓN O ENMIENDA DEL DOCUMENTO ANULA AUTOMÁTICAMENTE SU VALIDEZ Y CONSTITUYE UN DELITO CONTRA LA FE PÚBLICA Y EL INFRACTOR ES SUJETO DE SANCIONES CIVILES Y PENALES POR DISPOSITIVOS LEGALES VIGENTES. PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL DEL PRESENTE INFORME DE ENSAYO. LA MUESTRA PARA DIRMENCIA DE ESTOS PRODUCTOS SE ALMACENARAN POR 90 DÍAS.

HUANCAYO, CIUDAD UNIVERSITARIA, 04 DE ABRIL DEL 2013.



Página 1/1



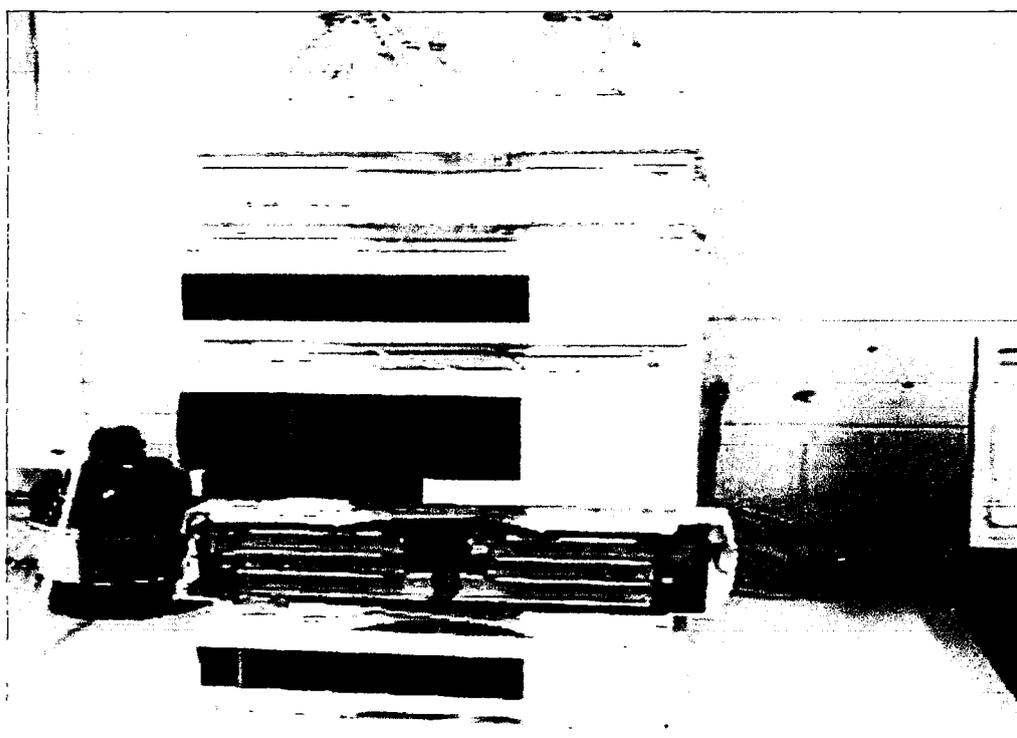
Figura Nº 12: Fruto de Lacca lacca



Figura Nº 13: Frutos de Lacca lacca



**Figura Nº 14: Planta de Lacca lacca**



**Figura Nº 15: Foto de HPLC**

## Anexo N° 04

### Procedimientos de determinación fisicoquímico presentes en el fruto de lacca lacca (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer)

#### 1. DETERMINACIÓN DE PROTEINAS Método Kjeldahl

##### a) OBJETIVO

Determinar la concentración de nitrógeno presente en la muestra para luego ser transformado a través de un factor en proteína.

##### b) ALCANCE Y CAMPO DE APLICACIÓN

El método es aplicable a alimentos en general.

##### c) FUNDAMENTO

El método se basa en la destrucción de la materia orgánica con ácido sulfúrico concentrado, formándose sulfato de amonio que en exceso de hidróxido de sodio libera amoníaco, el que se destila recibiendo en:

- Ácido sulfúrico donde se forma sulfato de amonio y el exceso de ácido es valorado con hidróxido de sodio en presencia de rojo de metilo, o
- Ácido bórico formándose borato de amonio el que se valora con ácido clorhídrico.

##### d) REFERENCIAS

- A.O.A.C. Official Methods of Analysis 13 th Edition, 1984.
- FAO Food and Nutrition Paper 14/7 Roma, 1986

##### e) MATERIAL Y EQUIPO

- Balanza analítica, sensibilidad 0.1 mg.
- Equipo Kjeldahl
- Manto calefactor
- pHmetro
- Material usual de laboratorio.

##### f) REACTIVOS

- Ácido sulfúrico concentrado, p.a.
- Sulfato de potasio o sulfato de sodio, p.a.

- Sulfato cúprico, p.a.
- Solución de hidróxido de sodio al 15 %. Disolver 150 g de NaOH y completar a 1 litro.
- Solución de ácido sulfúrico 0,1 N. Tomar 2,7 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc. y completar a 1 litro, luego estandarizar con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> anhidro p.a.
- Solución de hidróxido de sodio al 30 %. Disolver 300 g de NaOH y completar a 1 litro.
- Solución indicadora de rojo de metilo al 1 % en etanol. Disolver 1 g de rojo de metilo en 100 ml de etanol (95 %).
- Solución de hidróxido de sodio 0,1 N. Tomar 4 g de NaOH y enrasar a 1 litro con agua recientemente hervida y enfriada. Valorar con ácido succínico.
- Ácido bórico al 3 %. Disolver 30 g de ácido bórico y completar a 1 litro.
- Indicador de Tashiro: rojo de metilo al 0,1 % y azul de metileno al 0,1 % en relación de en alcohol etílico.
- Solución de ácido clorhídrico 0.1 N. Tomar 8,3 ml de HCl conc. y enrasar a 1 litro. Valorar con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> anhidro.

#### g) PROCEDIMIENTO

- Realizar la muestra en duplicado.
- Efectuar un ensayo en blanco usando una sustancia orgánica sin nitrógeno (sacarosa) que sea capaz de provocar la reducción de los derivados nítricos y nitrosos eventualmente presentes en los reactivos.
- Pesar al 0.1 mg. alrededor de 1 g de muestra homogeneizada (m) en un matraz de digestión Kjeldahl.
- Agregar 3 perlas de vidrio, 10 g de sulfato de potasio o sulfato de sodio, 0.5 g de sulfato cúprico y 20 ml de ácido sulfúrico conc.
- Conectar el matraz a la trampa de absorción que contiene 250 ml de hidróxido de sodio al 15 %. El disco poroso produce la división de los humos en finas burbujas con el fin de facilitar la absorción y para que tenga una duración prolongada debe ser limpiado con regularidad antes del uso. Los depósitos de sulfito sódico se eliminan con ácido clorhídrico. Cuando la solución de hidróxido

de sodio al 15 % adicionada de fenolftaleína contenida en la trampa de absorción permanece incolora debe ser cambiada (aprox. 3 análisis).

- Calentar en manta calefactora y una vez que la solución esté transparente, dejar en ebullición 15 a 20 min. máx. Si la muestra tiende a formar espuma agregar ácido esteárico o gotas de silicona antiespumante y comenzar el calentamiento lentamente.
- Enfriar y agregar 200 ml de agua.
- Conectar el matraz al aparato de destilación, agregar lentamente 100 ml de NaOH al 30 % por el embudo, y cerrar la llave.
- Destilar no menos de 150 ml en un matraz que lleve sumergido el extremo del refrigerante o tubo colector en:
  - a) 50 ml de una solución de ácido sulfúrico 0,1 N, 4 a 5 gotas de rojo de metilo y 50 ml de agua destilada. Asegurar un exceso de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para que se pueda realizar la retrotitulación. Titular el exceso de ácido con NaOH 0,1 N hasta color amarillo o
  - b) 50 ml de ácido bórico al 3 %. Titular con ácido clorhídrico 0,1 N hasta pH 4.6 mediante un medidor de pH calibrado con soluciones tampón pH 4 y pH 7, o en presencia del indicador de Tashiro hasta pH 4.6

Cada cierto tiempo es necesario verificar la hermeticidad del equipo de destilación usando 10 ml de una solución de sulfato de amonio 0,1 N (6,6077 g/l), 100 ml de agua destilada y 1 a 2 gotas de hidróxido de sodio al 30 % para liberar el amoníaco, así como también verificar la recuperación destruyendo la materia orgánica de 0,25 g de l (-)-Tirosina. El contenido teórico en nitrógeno de este producto es de 7,73 %. Debe recuperarse un 99,7 %

#### h) CALCULO Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

$$\% N = \frac{14 \times N \times V \times 100}{m \times 1000}$$

$$\% \text{ Proteína} = \frac{14 \times N \times V \times 100 \times \text{factor}}{m \times 1000}$$



Dónde:

V : 50 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 N - gasto NaOH 0,1 N o gasto de HCl 0,1 N

m : masa de la muestra, en gramos

factor : 6.25: para carne, pescado, huevo, leguminosas y proteínas en general

Repetitividad del método: La diferencia entre los resultados de dos determinaciones efectuadas una después de otra, por el mismo analista, no debe exceder 0.06 % de Nitrógeno o 0.38 % de proteína. En la planilla de resultados se indicará método utilizado, identificación de la muestra, peso de muestra, gastos de titulación, factor utilizado y resultados obtenidos de la muestras en duplicado con 2 decimales.

2. **Sólidos solubles (°Brix.):** Se determinó por triplicado, expresándose como °Brix con un refractómetro digital ATAGO a 25 °C.
3. **pH:** El pH se determinó por triplicado empleando un potenciómetro digital Jenway 3310 por inmersión directa del electrodo en la muestra.
4. **Determinación de humedad:** La determinación de humedad es una técnica a utilizar en análisis de alimentos para valorar la calidad del alimento, así como su adulteración durante su procesamiento, por lo que el alumno debe conocer dicha técnica y saber interpretar sus resultados.

**Procedimiento:**

- A. Regula la temperatura de la estufa de 100 a 105 °C.
- B. Pesa un plato de aluminio (o cápsula).
- C. Pesa 2 g de algún alimento en la cápsula y anota el peso de la cápsula más el peso de la muestra.
- D. Coloca la cápsula en la estufa por cuatro horas.
- E. Después del tiempo estipulado, transfiere la cápsula al desecador hasta que alcance la temperatura ambiente.
- F. Pesa la cápsula con la muestra seca.

- 5. Determinación de cenizas:** El análisis de un alimento para encontrar el contenido de cenizas o material inorgánico, se lleva a cabo para valorar la calidad y adulteración de una muestra de alimento, por lo que es necesario adquirir la habilidad de utilizar la técnica adecuada para dicho análisis.

**Procedimiento:**

- A. Pesa un crisol vacío y seco.
  - B. Agrega al crisol de 1,5 a 2,0 g de muestra a estudiar, y anota el peso del crisol más el peso de la muestra.
  - C. Coloca el crisol con la muestra por dos horas en una mufla calentada previamente a 600 °C.
  - D. Apaga la mufla y posteriormente pasa el crisol a un desecador hasta que alcance la temperatura ambiente.
  - E. Pesa el crisol con la muestra fría.
  - F. Calcula el porcentaje de cenizas aplicando la fórmula.
- 6. Determinación de grasas o extracto etéreo:** La determinación de grasa, o extracto etéreo por el método de Soxhlet, nos permite estimar el tiempo de almacenamiento de un producto alimenticio con base en el contenido de grasa, ya que un alimento que contenga una alta cantidad, sufre el proceso de oxidación o acidez.

**Procedimiento:**

- A. Anota el peso del vaso vacío.
- B. Agrega 2 g de muestra en el papel filtro y anota el peso.
- C. Coloca el papel con muestra dentro del tubo de extracción.
- D. Añade 150 ml de éter de petróleo al matraz de extracción.
- E. Lleva a cabo el calentamiento de extracción por dos horas.
- F. Después del tiempo estipulado, coloca el papel con la muestra seca en un desecador para obtener peso constante.

G. Pesa el papel con la muestra desgrasada y anota los resultados obtenidos.

- 7. Determinación de proteínas:** El método para la determinación de proteínas nos llevará a conocer el contenido de proteínas en una muestra de alimento, con el fin de poder estimar el valor nutricional y la calidad de los alimentos.

**Procedimiento:**

- A. Pesa de 0,9 a 2,5 g de muestra de alimento y envuélvela en un papel filtro.
- B. Transfiere el papel con la muestra a un matraz de digestión Kjeldahl.
- C. Adiciona al matraz 20 g de una mezcla de catalizadores (Sulfato de potasio y sulfato de plata) y 25 ml de ácido sulfúrico concentrado.
- D. Caliente el matraz en posición inclinada hasta que cese la formación de espuma.
- E. Lleva el calentamiento hasta hervir (338 °C) por un tiempo de 40 min.
- F. Deja enfriar el contenido.
- G. Agrega 200 ml de agua destilada, 25 ml de solución de tiosulfato de sodio y mézclalos completamente.
- H. Coloca el matraz en el destilador y agrega 120 ml de solución de NaOH al 50 % p/v
- I. Recoge el destilado en un matraz que contenga ácido bórico al 4% y 4 gotas del indicador rojo de metilo, hasta una cantidad aproximada de 250 ml.
- J. Titula el destilado con NaOH 0,1N valorado y anota los resultados.
- K. Con base en los resultados obtenidos determina la cantidad de proteína presente en la muestra analizada.

- 8. Carbohidratos:** Se aplicó el método Fenol / ácido sulfúrico para cuantificar la concentración de disacáridos en muestras acuosas. El resultado se relaciona en ppm y mg de azúcares 100 cm<sup>-3</sup>.

**9. Titulación potenciométrica**

**a. Introducción:**

La titulación es un método básico y de mucha utilidad a la hora de determinar concentraciones desconocidas de reactivos conocidos. La titulación potenciométrica es muy eficiente cuando no es fácil detectar valoraciones de un indicador visual. Es por esto que se considera uno de los métodos más exactos. Una de las ventajas de este método es que se puede aplicar a muchos tipos de soluciones, ya sean turbias, fluorescentes, opacas, coloreadas, entre otras.

**b. Objetivos:**

Realizar una titulación potenciométrica ácido - base sin ayuda de indicadores, sólo detectando el punto final cuando al calcular los pH ocurra un cambio relativamente alto entre estos.

**c. Materiales:**

- Matraz aforado de 25 ml
- Vidrio de reloj
- Vasos de precipitados 50 ml y 100 ml
- Termo agitador
- Bureta de 25 ml
- Matraz erlenmeyer de 25 ml
- Pipetas de 2 ml, 5ml, 10 ml
- Piseta
- Embudo
- Potenciómetro
- HCl 0,1 N NaOH
- 0,1 M Vinagre
- Fenolftaleína.
- Naranja de metilo
- Solución de NaOH, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>.

**d. Procedimientos:**

**Titulación potenciométrica - ácido fuerte – base fuerte:**

- Calibración del potenciómetro. Calibrar el potenciómetro con soluciones amortiguadoras que tengan pH de 4, 7 y 10, como se lo indique el profesor.

- Colocar en un vaso de precipitado de 50 ml, 2 ml de HCl. 0,1 N.
- Montar un equipo de titulación, dejando el electrodo del potenciómetro dentro de la solución.
- Anotar el pH inicial de la solución de HCl.
- Agregar 0,2 ml de NaOH 0,1 M, anotar el pH cada que se vaya agregando 0,2 ml hasta que haya un cambio brusco de pH, dejar de agregar NaOH.

Datos por ejemplo:

ml titulante (NaOH)	pH

## Anexo N° 05

### Procedimientos de determinación de concentración e identificación de antocianinas presentes en fruto de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer)

#### 1. Extracción del pigmento con acetona y cloroformo para la cuantificación e identificación de antocianinas por HPLC.

Los frutos frescos de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer) (2,996 g) fueron siendo licuados con una solución agua / acetona (30:70 v/v) y luego se filtró usando un embudo buchner. La torta residual del filtrado fue nuevamente re-extraída con la solución agua / acetona (30:70 v/v) hasta obtener una solución clara. Los filtrados fueron combinados, llevados a una pera de decantación, agregándose cloroformo. La porción acuosa (parte superior) fue colectada y colocada en un rota vapor Buchi a 40 °C durante 5 a 10 minutos, hasta que la acetona residual se evapora. El extracto acuoso fue llevado hasta un volumen conocido (100 ml) usando agua destilada.

#### 2. Cuantificación del total de antocianinas mediante el método del pH diferencial

Las antocianinas desarrollan transformaciones estructurales reversibles con el cambio del pH manifestado por el espectro a diferentes absorbancias. La forma del oxonio coloreado predomina a pH 1,0 y la forma hemiacetal incolora a pH 4,5.

El método del pH diferencial se basa en esta reacción y permite segura y rápidamente medir el total de antocianinas monoméricas.

Se utilizó un espectrofotómetro UV - visible Hewlett Packard 8453; las mediciones fueron realizadas a 520 (máxima longitud de onda determinada) y a 700 nm.

El contenido de antocianinas monoméricas fue calculado como cianidina-3-glucosido, usando como coeficiente de extinción molar 26 900 l cm mg y como peso molecular 449.6 g L Se calculó un factor de dilución de 180. Los cálculos se realizaron usando las siguientes formulas

**Fórmula 1. Cálculo de la absorbancia de la muestra**

$$*A = (A_{\text{vis-max}} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{\text{vis-max}} - A_{700})_{\text{pH } 4,5}$$

**Fórmula 2. Cálculo del contenido de antocianinas**

$$\text{Contenido de antocianinas (p/p)} = (*A \times MW \times DF \times VWt) / (\epsilon \times l)$$

\*A = Absorbancia de la muestra

MW= Peso molecular de la cianidina-3-glucósido (449,6 g / l)

DF = Factor de dilución (180)

V = Volumen final en ml

Wt = Peso de la muestra en mg

$\epsilon$  = Absortividad molar de la cianidina-3-glucósido (26 900 l cm<sup>-1</sup>mg<sup>-1</sup>)

l = Grosor de la cubeta (1cm)

### 3. Hidrólisis ácida de las antocianinas. Método para la determinación de los aglicones

El objetivo de este método es obtener los aglicones, por separación de los azúcares y otras sustancias como ácidos ligados a la estructura antocianica, con el único propósito de identificar las antocianidinas presentes en el pigmento. En un tubo de ensayo, se disolvió el extracto acuoso acidificado (1ml) con 10 ml de HCl 4N; se puso en contacto el contenido con gas nitrógeno y se tapó herméticamente. El pigmento fue hidrolizado durante 45 minutos a 100 °C, luego se enfrió en un baño de hielo. El hidrolizado fue purificado usando un cartucho C-18.

### 4. Determinación de antocianinas por HPLC-MS/MS (Espectro de masas tandem)

La espectrometría de masas se basa en la medida directa de la relación de la masa con el número de cargas elementales positiva o negativa de los iones (m/z) en la fase gaseosa obtenida de la sustancia a analizar. Esta relación se expresa en unidades de masa atómica (u), (1u= la doceava parte de la masa de un átomo de carbono 12) o en daltons (1 Da= a la masa del átomo de hidrogeno). En este estudio se han utilizado, el análisis del ion precursor, análisis del producto iónico, análisis de perdida neutral común y la monitorización selectiva de reacción, que son parte de la espectrometría

de masas tandem (MS-MS), la cual tiene la ventaja de lograr dos separaciones de los componentes de la muestra, siendo ambas separaciones iónicas; debido a esta especificidad, esta técnica es usada para lograr análisis cuantitativos de analitos en mezclas simples en cuestión de minutos sin necesidad de una separación cromatografía u otro tratamiento químico que elimine interferentes.

La caracterización de cada una de las antocianinas se realizó utilizando la monitorización selectiva de reacción (SRM), y el análisis del ion precursor, el cual detecta todos los iones precursores en una muestra que se fragmenta como un producto iónico común en tanto que el análisis de pérdida neutral común detecta aquellos iones precursores que se fragmentan para producir iones con una diferencia común en *mz* producida por la pérdida de un fragmento característico de un producto o de una familia de compuestos.

La separación de las antocianinas fue llevada a cabo en una columna C-18 Waters Symmetry (4,6 x 75 mm, 3,5m); se usó un túnel de triple cuadrupolo (Quattro Ultima, Micromass, UK Limited, Manchester, UK). El rango de flujo del HPLC se estableció en 1 ml/min, la fase móvil: A, ácido fórmico al 10%; B, acetonitrilo; la gradiente usada; 0-20 min, 100%-85% A; 20-25 min, 85%-100% A. El espectro de absorción de las antocianinas fue realizado en el rango 200 – 600 nm. Los espectros de masas fueron obtenidos usando la Monitorización Selectiva de Iones (SIM). Aproximadamente 100 l del eluato del HPLC fueron separados por una micro válvula y se depositaron en la fuente ESI. El cuadrupolo fue operado según las siguientes condiciones: Voltaje capilar 3,2 kV, voltaje de cono 35 V, RF lense 1,50 V, temperatura del gas de desolvación 500 °C con un flujo de 269 l/h, temperatura de la fuente 105 °C, presión de colisión de gas (argón) 7 psi; la energía de colisión fue establecida en 25 eV.