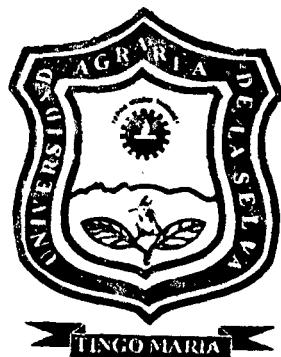


# UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

## FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Departamento Académico de Ciencia, Tecnología e Ingeniería de Alimentos



ANTOCIANINAS, ACIDO ASCORBICO, POLIFENOLES TOTALES  
Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN LA CASCARA DE CAMU CAMU  
(*Myrciaria dubia* McVaugh H.B.K.)

## TESIS

PARA OPTAR EL TITULO DE :

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

PRESENTADO POR :

**JUAN EDSON VILLANUEVA TIBURCIO**

Promoción 2001 - II

**TINGO MARIA - PERU**

**2003**

547.74

VS

Villanueva Tiburcio, J. E.

**ANTOCIANINAS, ÁCIDO ASCÓRBICO, POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN LA CÁSCARA DE CAMU CAMU (*Myrciaria dubia* McVaugh H.B.K.). – Tingo María, 2003.**

106 h.; cuadros, fig. color.; 30 cm.; 89 ref., Resumen (En, Es)

Tesis (Ing. Ind. Alimentarias)

Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María  
(Huánuco, Perú). Facultad Ind. Alimentarias

POLIFENOLES/ METABOLITOS SECUNDARIOS/ ACIDOS ORGANICOS/  
VITAMINA C/ EVALUACIÓN/ MECANISMO DE ACCIÓN/ RADICALES  
LIBRES/ MYRCIARIA/ FITONUTRIENTES/ SEUDOVIDAMINAS

AGRIS F01, Q02



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**  
**Tingo María**  
**FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

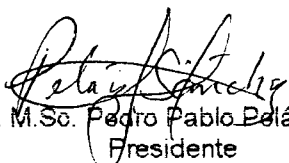
**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos en acto público el 06 de octubre del 2003, a horas 04:45 p.m. en la Sala de Grados de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicada en la ciudad de Tingo María, provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco, para calificar la tesis presentado por el Bachiller en Ciencias Industrias Alimentarias: **Juan Edson VILLANUEVA TIBURCIO**.

**“ANTOCIANINAS, ÁCIDO ASCÓRBICO; POLIFENOLES  
TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, EN LA CÁSCARA DE  
CAMU CAMU (*Myrciaria dubia* McVaugh H.B.K)”**

Después de haber escuchado la sustentación, las respuestas a las preguntas formuladas, lo declaran aprobado con el calificativo de **BUENO**, en consecuencia el Bachiller: **Juan Edson VILLANUEVA TIBURCIO**, queda apto para recibir el título de **Ingeniero en Industrias Alimentarias** del Consejo Universitario, de conformidad con el Art.22° de la Ley Universitaria 23733; los artículos 43° y 45° del Estatuto y los artículos 95° y 96° del Reglamento General de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Tingo María, 07 de octubre del 2003

  
Ing°. M.Sc. Pedro Pablo Deláez Sánchez  
Presidente

  
Ing°. Laureano Zavaleta De La Cruz  
Vocal

  
Ing. Vicente Pocomucha Poma  
Vocal

Ing°. M.Sc. Luis Aliberto Condezo Hoyos  
Asesor

## **DEDICATORIA**

**A mis queridos padres:**

**JUAN y AÍDA**, con  
inmensa gratitud, por  
haberme dado la vida, su  
amor innegable y apoyo en  
la realización de mis más  
grandes anhelos.

**A mis hermanos:**

**NELSON y HENRY**, por su  
apoyo moral e  
incondicional que me  
brindaron en la realización  
del presente trabajo de  
investigación.

## **AGRADECIMIENTOS**

- A DIOS, por darme la vida, inteligencia y fuerza para realizar mis deseos de superación.
- Al Ing° MSc Luis Alberto Condezo Hoyos, Asesor del presente trabajo de investigación, por su amistad, confianza y los conocimientos proporcionados hacia mi persona.
- Al PhD Manuel Sandoval Chacón, al Dr. José Vicente Sinisterra Gago, al , Ing° MSc Pedro Pablo Peláez Sánchez y al Ing° MSc Juan Lao Gonzáles, por la orientación proporcionados en el presente trabajo de investigación.
- A mi madrina, la Sra. Corina Mónica Palacios Aliaga, por la ayuda prestada en la redacción del presente trabajo.
- A mi amigo Juan Rumaldo Torres, por la ayuda prestada en la redacción del presente trabajo.
- A mis amigos, Vanesa Melchor Sandoval, Iris Ruiz Yance, Sélter Estrella Cartagena, Fernando Ramos Escudero, Luis Becerril Albornoz, Estelo Celestino Quinto, por su ayuda desinteresada.
- A mis profesores, por brindarme sus consejos y conocimientos durante mi formación profesional.
- A todos mis amigos y amigas, que de una u otra manera contribuyeron en la realización del presente trabajo.

## ÍNDICE GENERAL

	Pag.
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	3
A. CAMU CAMU .....	3
1. Aspectos generales .....	3
2. Aspectos botánicos .....	3
a. Morfología .....	3
b. Taxonomía .....	4
3. Fruta .....	4
4. Composición Química de la Fruta .....	5
B. RADICALES LIBRES Y ANTIOXIDANTES .....	7
1. Radicales libres .....	7
2. Antioxidantes .....	11
a. Antioxidantes sintéticos .....	11
b. Antioxidantes naturales .....	12
1) Antioxidantes nutrientes .....	12
2) Antioxidantes no nutrientes .....	12
c. Antioxidantes endógenos .....	12
C. POLIFENOLES .....	13

1. Efectos antimutagénicos y anticarcinógenos .....	13
2. Relación de los compuestos fenólicos con la calidad organoléptica de los alimentos .....	15
D. ÁCIDO ASCÓRBICO .....	16
E. ANTOCIANINAS .....	19
1. Estructura química .....	21
2. Factores que influyen en la estabilidad de las antocianinas .....	23
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>26</b>
A. LUGAR DE EJECUCIÓN .....	26
B. MATERIA PRIMA Y REACTIVOS .....	26
1. Materia prima .....	26
2. Reactivos .....	26
C. MATERIALES .....	27
1. Materiales de laboratorio .....	27
2. Equipos de laboratorio .....	27
D. MÉTODOS DE ANÁLISIS.....	27
1. Cuantificación de antocianinas .....	27
2. Cuantificación de ácido ascórbico .....	28
3. Cuantificación de polifenoles totales .....	28
4. Evaluación de la actividad antioxidante .....	28

a. Radical 2,2 diphenyl-1-picrilhydrazyl (DPPH) .....	28
b. Cation 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazoline-6' ácido sulfónico) (ABTS <sup>+</sup> ) .....	28
c. Radical peroxílo .....	28
E. METODOLOGÍA .....	29
1. Cuantificación de antocianinas, ácido ascórbico y polifenoles totales en la cáscara de camu camu .....	29
a. Preparación de la muestra .....	29
b. Cuantificación de antocianinas .....	29
c. Cuantificación de ácido ascórbico .....	30
d. Cuantificación de polifenoles totales .....	30
2. Evaluación de la actividad antioxidante en la cáscara seca de camu camu en tres estados de madurez .....	32
a. Radical 2,2 diphenyl-1-picrilhydrazyl (DPPH) .....	32
1) Coeficiente de inhibición IC <sub>50</sub> .....	32
2) Constante de velocidad K <sub>2</sub> .....	32
i) Construcción de la curva de calibración .....	32
ii) Constante de velocidad K <sub>2</sub> .....	33
3) Poder antirradical .....	33
b. Cation 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazoline-6' ácido sulfónico) (ABTS <sup>+</sup> ) .....	34
c. Radical peroxílo .....	34

F. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	39
1. Análisis de regresión no lineal (ARNol) .....	39
2. Análisis de regresión lineal .....	39
3. Estadística descriptiva .....	39
4. Análisis de varianza .....	39
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>40</b>
A. ÍNDICE DE MADUREZ .....	40
B. CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS .....	41
C. CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO .....	42
D. CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES .....	44
E. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE .....	45
1. Radical 2,2 diphenyl-1-picrilhydrazyl (DPPH) .....	45
a) Coeficiente de inhibición IC <sub>50</sub> .....	48
b) Constante de velocidad K <sub>2</sub> .....	50
c) Poder antirradical .....	51
2. Cation 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazoline - 6 ácido sulfónico) (ABTS <sup>+</sup> ) .....	55
a) Coeficiente de inhibición IC <sub>50</sub> .....	57
3. Radical peroxílo .....	58
a) Coeficiente de inhibición IC <sub>50</sub> .....	59
<b>V. CONCLUSIONES .....</b>	<b>61</b>

<b>VI. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>62</b>
<b>VII. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>63</b>
<b>VIII. ANEXOS .....</b>	<b>74</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

	Pag.
<b>Cuadro 1.</b> Análisis químico de camu camu en pulpa fresca .....	6
<b>Cuadro 2.</b> Análisis de micronutrientes (Minerales), en pulpa fresca de camu camu .....	7
<b>Cuadro 3.</b> Radicales libres derivados del oxígeno .....	9
<b>Cuadro 4.</b> Otras especies de radicales libres .....	10
<b>Cuadro 5.</b> Fuentes dietéticas de polifenoles con actividad antioxidante .....	16
<b>Cuadro 6.</b> Color y distribución de las mayores antocianinas en algunas frutas y vegetales comunes .....	19
<b>Cuadro 7.</b> Contenido total de antocianinas en algunas frutas y vegetales ....	21
<b>Cuadro 8.</b> Partes sustituidas de las antocianinas .....	22
<b>Cuadro 9.</b> Contenido de antocianinas en la cáscara de camu camu .....	41
<b>Cuadro 10.</b> Contenido de polifenoles totales en la cáscara seca de camu camu .....	44
<b>Cuadro 11.</b> Coeficiente de inhibición $IC_{50}$ , de la cáscara de camu camu seco frente al radical DPPH .....	49
<b>Cuadro 12.</b> Constante de velocidad de reacción ( $K_2$ ) para el radical DPPH frente a los extractos acuosos de la cáscara seco de camu camu .....	50
<b>Cuadro 13.</b> Coeficiente de inhibición $IC_{50}$ , de la cáscara seco de camu camu frente al catión $ABTS^+$ .....	57
<b>Cuadro 14.</b> Coeficiente de inhibición $IC_{50}$ , de la cáscara seco de camu camu frente al radical peróxido.....	59

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pag.</b>
<b>Figura 1.</b> Fruto del camu camu ( <i>Myrciaria dubia</i> McVaugh H.B.K) .....	5
<b>Figura 2.</b> Metabolismo general de los productos naturales .....	14
<b>Figura 3.</b> Estructura química del ácido ascórbico .....	17
<b>Figura 4.</b> Estructura general de la antocianina y partes sustituidas de algunos compuestos comunes .....	22
<b>Figura 5.</b> Transformaciones estructurales de las antocianinas en solución acuosa a diferentes valores de pH .....	24
<b>Figura 6.</b> Secuencia experimental para la determinación del índice de madurez, ácido ascórbico, antocianinas y polifenoles totales, en la cáscara de camu camu. ....	31
<b>Figura 7.</b> Secuencia experimental para evaluar la actividad antioxidante de los extractos acuosos de la cáscara de camu camu, usando diferentes radicales.....	35
<b>Figura 8.</b> Secuencia experimental para determinar la actividad antioxidante de los extractos acuosos de la cáscara de camu camu por el método del radical DPPH .....	36
<b>Figura 9.</b> Secuencia experimental para determinar la actividad antioxidante de los extractos acuosos de la cáscara de camu camu por el método del catión ABTS <sup>+</sup> .....	37
<b>Figura 10.</b> Secuencia experimental para determinar la actividad antioxidante de los extractos acuosos de la cáscara de camu camu por el método del radical peroxilo .....	38

<b>Figura</b>	<b>11.</b>	Índice de madurez de la pulpa de camu camu, en tres estados de madurez .....	40
<b>Figura</b>	<b>12.</b>	Contenido de ácido ascórbico en la cáscara de camu camu en estado fresco y seco. ....	43
<b>Figura</b>	<b>13.</b>	Cinética de reacción del radical DPPH frente al extracto acuoso de la cáscara de camu camu madura .....	46
<b>Figura</b>	<b>14.</b>	Cinética de reacción del radical DPPH frente al extracto acuoso de la cáscara de camu camu pintón .....	46
<b>Figura</b>	<b>15.</b>	Cinética de reacción del radical DPPH frente al extracto acuoso de la cáscara de camu camu verde .....	47
<b>Figura</b>	<b>16.</b>	Porcentaje de inhibición del radical DPPH, frente a los extractos acuosos de la cáscara seco de camu camu .....	48
<b>Figura</b>	<b>17.</b>	Potencial electrostático 3D (A) ácido ascórbico, (B) radical DPPH, optimizado mediante Mecánica Molecular. Color verde (menor capacidad oxidante), color fucsia (menor capacidad reductora) .....	52
<b>Figura</b>	<b>18.</b>	Mecanismo de reacción del ácido ascórbico frente al radical DPPH. Evaluado mediante simulación con Hyperchem .....	53
<b>Figura</b>	<b>19.</b>	Potencial electrostático 2D-mapa de contorno (A) radical DPPH (B) ácido ascórbico, optimizado mediante Mecánica Molecular. Color verde (menor capacidad oxidante), color fucsia (menor capacidad reductora) .....	54
<b>Figura</b>	<b>20.</b>	Porcentaje de inhibición de los extractos acuosos de la cáscara de camu camu seco, frente al catión ABTS <sup>+</sup> .....	55

<b>Figura</b>	<b>21.</b>	Reacción de inhibición del catión ABTS <sup>+</sup> , frente a los extractos acuosos de la cáscara seco de camu camu (50 µg/mL). Evaluado luego de diez minutos de reacción .....	56
<b>Figura</b>	<b>22.</b>	Inhibición del radical peroxílo, frente a los extractos acuosos de la cáscara seca de camu camu. Evaluado luego de diez minutos de reacción .....	58
<b>Figura</b>	<b>23.</b>	Curva patrón para la cuantificación de ácido ascórbico .....	75
<b>Figura</b>	<b>24.</b>	Curva patrón de polifenoles totales .....	76
<b>Figura</b>	<b>25.</b>	Curva de calibración del radical DPPH .....	76
<b>Figura</b>	<b>26.</b>	Curva remanente del radical DPPH- ácido ascórbico .....	77
<b>Figura</b>	<b>27.</b>	Remanente de la reacción del radical DPPH frente al extracto acuoso de la cáscara madura de camu camu .....	77
<b>Figura</b>	<b>28.</b>	Remanente de la reacción del radical DPPH frente al extracto acuoso de la cáscara pintón de camu camu .....	78
<b>Figura</b>	<b>29.</b>	Remanente de la reacción del radical DPPH frente al extracto acuoso de la cáscara verde de camu camu .....	79
<b>Figura</b>	<b>30.</b>	Efecto del ácido ascórbico (A) y polifenoles (B) en la capacidad antioxidante del radical DPPH. Coeficiente de correlación evaluado mediante el plotéo de IC <sub>50</sub> respecto al contenido de Ácido ascórbico (r = 0,999) y polifenoles totales (r = 0,999) .....	80
<b>Figura</b>	<b>31.</b>	Remanente de la reacción del ABTS <sup>+</sup> , frente al ácido ascórbico	80
<b>Figura</b>	<b>32.</b>	Remanente de la reacción del catión ABTS <sup>+</sup> frente al extracto acuoso de la cáscara madura de camu camu .....	80
<b>Figura</b>	<b>33.</b>	Remanente de la reacción del catión ABTS <sup>+</sup> frente al extracto	

	acuoso de la cáscara pintón de camu camu .....	81
<b>Figura</b>	<b>34.</b> Remanente de la reacción del ABTS <sup>+</sup> frente al extracto acuoso de la cáscara verde de camu camu .....	81
<b>Figura</b>	<b>35.</b> Efecto del ácido ascórbico (A) y polifenoles (B) en la Capacidad Antioxidante del Cation ABTS <sup>+</sup> . Coeficiente de correlación evaluado mediante el plotéo de IC <sub>50</sub> respecto al contenido de ácido ascórbico (r = 0,994) y polifenoles totales (r = 0,993) .....	82
<b>Figura</b>	<b>36.</b> Curva de calibración radical peroxílo frente al ácido ascórbico ..	83
<b>Figura</b>	<b>37.</b> Remanente de la reacción del radical peroxílo, frente al extracto acuoso de la cáscara maduro de camu camu .....	83
<b>Figura</b>	<b>38.</b> Remanente de la reacción del radical peroxílo, frente al extracto acuoso de la cáscara pintón de camu camu .....	84
<b>Figura</b>	<b>39.</b> Remanente de la reacción del radical peroxílo, frente al extracto acuoso de la cáscara verde de camu camu .....	84
<b>Figura</b>	<b>40.</b> Efecto del ácido ascórbico (A) y polifenoles (B) en la capacidad antioxidante del radical peroxílo. Coeficiente de correlación evaluado mediante el plotéo de IC <sub>50</sub> respecto al contenido de ácido ascórbico (r = 0,926) y polifenoles totales (r = 0,923) .....	85

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en la Universidad Nacional Agraria de la Selva-Tingo Maria, Perú; en los laboratorios de Análisis de Alimentos, y Análisis de Semillas. Los objetivos fueron evaluar el contenido de ácido ascórbico, antocianinas y polifenoles totales, en la cáscara fresca y seca de camu camu (*Myrciaria dubia* McVaugh H.B.K); evaluar la actividad antioxidante, usando diferentes tipos de radicales (DPPH, ABTS<sup>+</sup> y Peroxílo) y correlacionar el contenido de ácido ascórbico y polifenoles totales con la actividad antioxidante.

La extracción, se realizó en medio acuoso con agitación, los resultados de las evaluaciones de cada experimento, se analizaron en un D.C.A, con una prueba de t - student con  $p < 0,05$ . Siendo el extracto acuoso de la cáscara de muestra madura en estado fresco que presentó el más alto contenido de ácido ascórbico y antocianinas con 21,95 mg Ac. Ascórbico/g muestra y 46,42 mg/L de cianidin-3-glucósido respectivamente, mientras que la cáscara seca de muestra pintón, presentó el mayor contenido de ácido ascórbico y polifenoles totales con 53,48 mg Ac. Ascórbico/g muestra seca y 7,70 mg Ac. Gálico/g muestra seca, respectivamente.

La mayor actividad antioxidativa, fue detectada en los extractos acuosos de la cáscara seca de muestra pintón, con  $IC_{50}=46,20$ ; 20,25 y 8,30  $\mu\text{g/mL}$  frente a los radicales DPPH, ABTS<sup>+</sup> y Peroxílo respectivamente.

La correlación de la actividad antioxidante, con el contenido de ácido ascórbico y polifenoles totales, respecto al radical DPPH fue de  $r = 0,999$  y  $r = 0,999$ ; para el radical ABTS<sup>+</sup>  $r = 0,994$  y  $r = 0,993$ , y para el radical Peroxílo  $r = 0,926$  y  $r =$

0,923, respectivamente; disminuyendo el coeficiente de correlación del ácido ascórbico y polifenoles totales para los radicales ABTS<sup>+</sup> y Peroxílo, suponiendo que la inhibición estaría influenciada por la acción de otros componentes no evaluados en éste experimento.

## SUMMARY

The present research was carried out at university Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María, Perú; in the laboratories of Food Analysis and Seed Analysis. The objectives were to evaluate the content of ascorbic acid, anthocyanins and total polyphenols, in the peel fresh and dry of camu camu (*Myrciaria dubia* McVaugh H.B.K), to evaluate their antioxidant activity using different types of radicals (DPPH, ABTS<sup>+</sup> and Peroxyl) and correlate the content of ascorbic acid and total polyphenols with the antioxidant activity.

The extraction, was carried out between watery, with agitation, the results of the evaluations of each experiment, were analyzed in a D.C.A, with a test of t-student  $p < 0,05$ . Being the watery extract of samples of the peel mature in fresh state, that present the biggest content of ascorbic acid and anthocyanins with 21,25 mg ascorbic acid/g it shows and 46,42 mg/L de cianidin-3-glucósido respectively, while in the peel dry of sample mid-ripe, present the biggest content of ascorbic acid and total polyphenols with 53,48 mg ascorbic acid/g dry sample and 7,70 mg galic acid/g dry sample respectively.

The biggest activity antioxidant it was detected in the watery extracts of the peel dry of sample mid-ripe, with  $IC_{50} = 46,20; 20,25$  and  $8,30 \mu\text{g/mL}$  in front of the radical DPPH, ABTS<sup>+</sup> and Peroxyl respectively.

The correlation of the antioxidant activity, with the content of ascorbic acid and total polyphenols, regarding the radical DPPH was of  $r = 0,999$  and  $r = 0,999$  for the radical ABTS<sup>+</sup>  $r = 0,994$  and  $r = 0,993$  and for the radical Peroxyl  $r = 0,926$  and  $r = 0,923$ , respectively; diminishing the coefficient of correlation of the ascorbic acid and total polyphenols for the radical ABTS<sup>+</sup> and Peroxyl radical,

supposing that the inhibition would be influenced by the action of other components evaluated in this experiment.

## I. INTRODUCCIÓN

El territorio peruano presenta una gran variedad de frutales nativos entre las que se destaca el camu camu (*Myrciaria dubia* McVaugh H.B.K), que se encuentra en nuestra amazonía; ésta se caracteriza principalmente por su alto contenido en ácido ascórbico, que supera significativamente a cítricos, como el limón y la naranja (Villachica, 1996), debido a ésta característica el camu camu presenta un gran interés para ser explotado en la agroindustria y farmacia (UDA, 2000).

La forma de uso del camu camu está limitada a la pulpa congelada, la que es obtenida de la fruta en diferentes estados de madurez.

Los antioxidantes naturales son preciados porque pueden ser usados en el diseño de alimentos benéficos para la salud (funcionales o nutraceuticos); con tendencia a usar menos aditivos químicos (Sloan, 2002); debido a que tienen la capacidad de neutralizar radicales libres, que son responsables de muchos daños al organismo (Zheng y Wang, 2001).

El mercado de éstos productos es uno de los más emergentes, con niveles de venta de 12,9 billones de dólares en el año 2001, proyectando un crecimiento para el año 2010 de 25,8 billones de dólares (Sloan, 2002).

Los objetivos del presente trabajo de investigación fueron:

- Cuantificar el contenido de antocianinas y ácido ascórbico, en cáscara fresca de camu camu, así mismo, cuantificar el contenido de antocianinas,

ácido ascórbico, y polifenoles totales en la cáscara seca de camu camu; en tres estados de madurez.

- Evaluar la actividad antioxidante de la cáscara seca de camu camu, en tres estados de madurez, empleando diferentes modelos in Vitro: DPPH, ABTS<sup>+</sup> y Peroxílos.
- Correlacionar la actividad antioxidante con el contenido de ácido ascórbico y polifenoles totales.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### A. CAMU CAMU

#### 1. Aspectos generales

El camu camu (*Myrciaria dubia* McVaugh H.B.K) es una fruta nativa de la Amazonía Peruana (Riva y Gonzáles, 1996; UDA, 2000); que se caracteriza por su alto contenido de ácido ascórbico (Zapata y Dufour, 1993; Riva y Gonzáles, 1996).

El camu camu es nativo de las zonas inundables, desarrollándose sin problemas en las orillas de los ríos, en aguas oscuras o claras por igual, resistiendo por más de cinco meses bajo el agua (Riva y Gonzáles, 1996; UDA, 2000); se desarrolla a lo largo de los ríos Ucayali y Amazonas, ubicándose la mayor cantidad de poblaciones naturales entre las localidades de Requena y Pebas en Loreto, (UDA, 2000). Además, existen poblaciones en los países de Colombia, Venezuela y Brasil (Riva y Gonzáles, 1996). Aún así, es posible propagarla exitosamente en condiciones no inundables, fuera de su habitat natural, también puede adaptarse a condiciones de suelos ácidos, y de baja fertilidad, constituyéndose un potencial importante para recuperar tierras abandonadas (UDA, 2000).

#### 2. Aspectos botánicos

##### a. Morfología

El camu camu (*Myrciaria dubia* McVaugh H.B.K) es un arbusto que alcanza hasta 4 m de altura (Zapata y Dufour, 1993; Villachica,

1996), se ramifica desde la base formando varios tallos secundarios que a su vez se ramifican en forma de vaso abierto. El tallo y las ramas son glabros, cilíndricos, lisos de color marrón claro o rojizo y con corteza que se desprende en forma natural (Villachica, 1996).

#### b. Taxonomía

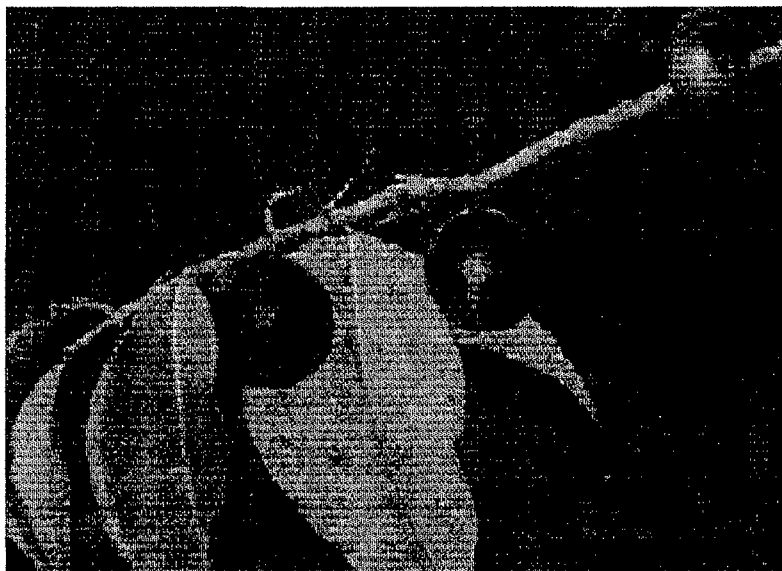
Según Riva y Gonzáles (1996), el camu camu (*Myrciaria dubia* McVaugh H.B.K), presenta la siguiente información taxonómica.

División : Fanerógamas  
Sub-división : Angiospermas  
Clase : Dicotiledóneas  
Orden : Myrtales  
Familia : Myrtaceae  
Genero : *Myrciaria*  
Especie : *Dubia* H.B.K

### 3. Fruta

La fruta, identificado como *Myrciaria dubia* McVaugh y reconocido como el auténtico camu camu, alcanza la madurez óptima entre los 60 y 70 días, con un peso que oscila entre 7 y 22 gramos; de 1,5 a 3,0 centímetros de longitud, con una coloración que va del granate a morado, la cáscara es de forma apergaminada; que contiene entre 1 a 4 semillas de forma chata y reuniforme aplanadas, de 8 a 15 mm de largo por 6 a 11 mm de ancho, que están cubiertas por una lámina de fibrillas blancas (Riva y Gonzáles, 1996). El peso de la pulpa y la

cáscara representa entre el 69 y 79 % en peso del fruto, siendo la proporción mayor en los frutos con dos semillas (Villachica, 1996).



**Figura 1.** Fruta de camu camu (*Myrciaria dubia* McVaugh H.B.K).

#### **4. Composición química de la pulpa de camu camu**

El principal componente en la pulpa de camu camu, es el ácido ascórbico, con un promedio de 2,780 mg/100 g de pulpa, las proteínas representan un 0,5 %, mientras que los otros constituyentes se encuentran en cantidades similares a otras frutas tropicales (Villachica, 1996).

Zapata y Dufour (1993), realizaron un estudio de la composición química de la pulpa de fruta fresca en tres estados de madurez (Cuadro 1 y 2), encontrando los siguientes componentes:

**Cuadro 1.** Análisis químico de camu camu en pulpa fresca.

<b>Parámetro</b>	<b>Verde</b>	<b>Pintón</b>	<b>Maduro</b>
Ácido ascórbico (g/Kg)	8,45	9,39	9,39
Ácido dehidroascórbico (g/Kg)	0,19	0,25	0,31
Glucosa (g/Kg)	2,24	3,61	8,16
Fructosa (g/Kg)	3,7	5,07	9,51
Ácido cítrico (g/Kg)	29,82	22,93	19,81
Ácido málico (g/Kg)	2,8	4,88	5,98
Acidez (Ac. Cítrico) (g/Kg)	3,55	3,07	3,08
pH	2,44	2,53	2,56
Densidad relativa (20/20°C)	1,026	1,025	1,030
°Brix (%)	5,6	5,5	6,8
Sólidos totales	69,8	67,7	81
°Brix / Acidez (relación)	1,6	1,8	2,2
Nitrógeno total	0,568	0,624	0,735
<b>Aminoácidos (mg / Kg)</b>			
Serína	299	371	637
Valina	99	168	316
Leucina	90	132	289
Glutamato	88	100	119
4-aminobutanato	71	93	108
Prolina	43	53	82
Fenilalanina	17	22	43
Treonina	20	28	36
Alanina	17	28	34

Fuente: Zapata y Dufour (1993).

**Cuadro 2.** Análisis de micronutrientes (minerales), en pulpa fresca de camu camu.

Micro nutrientes (mg / Kg)	Verde	Pintón	Maduro
K	532	600	711
Ca	66	62	65
Mg	47	47	51
Na	49	44	27
PO <sub>4</sub>	245	256	295
SO <sub>4</sub>	219	163	132
Al	3,1	3,0	2,1
B	0,4	0,5	0,5
Cu	0,5	0,7	0,8
Fe	1,3	1,8	1,8
Mn	1,4	1,4	2,1
Zn	1,3	1,2	1,3
Cl	77	66	116

Fuente: Zapata y Dufour (1993).

## B. RADICALES LIBRES Y ANTIOXIDANTES

### 1. Radicales libres

En el año de 1954, la Doctora Rebeca Gerschman, sugirió por primera vez, que los radicales libres eran agentes tóxicos y generadores de patologías (García *et al.*, 2001).

Un radical libre es una especie capaz de existir independientemente, el cual contiene uno o más electrones desapareados (García *et al.*, 2001; Halliwell *et al.*, 1995; Gonzáles-Torres *et al.*, 2000; Thomas, 2000),

confiriéndole una configuración espacial que genera una alta inestabilidad, siendo extraordinariamente reactivo y de vida efímera (Rodríguez *et al.*, 2001).

Los radicales libres son elaborados continuamente como un producto del metabolismo normal de cada célula (González-Torres *et al.*, 2000; Halliwell *et al.*, 1995; Rodríguez *et al.*, 2001). El desbalance entre la producción de Especies Reactivas de Oxígeno Reactivo (EROS) y la defensa antioxidante, provoca un daño orgánico conocido como estrés oxidativo, que lleva a una variedad de cambios fisiológicos y bioquímicos, los cuales ocasionan el deterioro y muerte celular (Rodríguez *et al.*, 2001).

Los radicales libres pueden generarse también a partir de fuentes exógenas, como las radiaciones ionizante, ultravioleta, la visible o térmica, algunos productos químicos carcinógenos (aumento de metales pesados, xenobióticos, componentes de tabaco, pesticidas), también diversos medicamentos y drogas antitumorales pueden inducir la liberación de radicales libres como el acetaminofén, andriamicina, neomicina, polimixina B, la Kanamicina, la Gentamicina y el Cloramfenicol, así como factores orgánicos y metabólicos (dieta hipercalórica, dieta insuficiente en antioxidantes, diabetes, procesos inflamatorios, traumatismos, y ejercicios extenuantes) (Halliwell *et al.*, 1995; Rodríguez *et al.*, 2001).

En los Cuadros 3 y 4, se muestran algunas especies de radicales libres, causantes de muchos daños al organismo.

**Cuadro 3.** Radicales libres derivados del oxígeno.

Radical	Nombre	Características
O <sub>2</sub>	Oxígeno molecular	A pesar de su carácter radicalario, es estable y moderadamente agresivo (a*).
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Anión superóxido	Otra variedad de oxígeno molecular que se forma a partir de O <sub>2</sub> normal por captura de un electrón (a*). Es muy reactivo en medio hidrófobo, pero no puede atravesar libremente las membranas biológicas, en condiciones fisiológicas puede transformarse en peróxido de hidrógeno (b).
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de Hidrógeno	No es un radical, pero puede generarlos rápidamente al estar en contacto con iones metálicos, como el fierro y cobre (a*,b).
HO <sup>-</sup>	Hidroxilo	Es el más reactivo y se le ha relacionado con el daño sufrido directamente a las proteínas, membranas celulares, ADN y lípidos (a*,b).
ROO <sup>-</sup>	Peroxilo	Formado a partir de hidroperóxidos orgánicos como lípidos o por pérdida de un hidrógeno de hidroperóxidos orgánicos (a**).
ROOH	Hidroperóxidos	Por ejemplo Lípido-OOH y Timina-OOH (a**).

(\*) Radicales Primarios o Inorgánicos, (\*\*) Radicales Secundarios u Orgánicos.

Fuente: a) Elejalde (2001); b) Gonzáles-Torres *et al.* (2000).

**Cuadro 4.** Otras especies de radicales libres.

Radical	Nombre	Características
ONOO <sup>-</sup>	Peroxinitrito	Se forma a partir de la reacción del radical superóxido con el ácido nítrico (a, b). Se le ha relacionado directamente con la patología de varios desordenes neurodegenerativos como la enfermedad de Alzheimer (a).
H <sup>•</sup>	Átomo de Hidrógeno	Es el radical libre más simple (b).
RS <sup>•</sup>	Tiol	Nombre general para un grupo de radicales con un electrón desapareado ubicado en el sulfuro (b).
RO <sup>•</sup>	Alcoxil	Radical ubicado en el oxígeno, formado durante el rompimiento de peróxidos orgánicos (b).
CCl <sub>3</sub>	Triclorometil	Radical desapareado ubicado en el carbono; el CCl <sub>3</sub> se forma durante el metabolismo de CCl <sub>4</sub> y contribuye al efecto tóxico de éste solvente (b).
NO <sup>•</sup> NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Óxidos de Nitrógeno	Ambos son radicales libres; el NO <sup>•</sup> se forma in vivo del aminoácido L-arginina. El NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> se forma cuando el NO <sup>•</sup> reacciona con el O <sub>2</sub> , así mismo es causado por la contaminación del aire y el humo, por la combustión de materiales orgánicos (b).

Fuente: a) Gonzáles-Torres *et al.* (2000); b) Halliwell (1995).

## 2. Antioxidantes

Los antioxidantes son compuestos que son adicionados a productos alimentarios, especialmente a aquellos que contienen lípidos (Sing *et al.*, 2001); También son definidos, como cualquier sustancia que a bajas concentraciones en comparación con el sustrato oxidable, retrasa o inhibe significativamente la oxidación de dicho sustrato a radicales libres (Serra y Tribo, 1991, Thomas, 2000). El antioxidante al colisionar con el Radical Libre (RL) le cede un electrón, oxidándose a su vez y transformándose en un RL débil no tóxico (Rodríguez *et al.*, 2001). Los procesos de antioxidación incluyen 1) Inhibición de radicales para prevenir su propagación, 2) Hidrólisis enzimática de enlaces ésteres para remover ácidos grasos peroxidados de lípidos, 3) Quelamiento de iones metálicos de transición, y 4) Reducción de peróxidos por catálisis enzimática (Thomas, 2000). La importancia de los antioxidantes es crucial ya que brinda protección contra las enfermedades como la arteriosclerosis, degeneraciones ligadas al envejecimiento y el cáncer (Serra y Tribo, 1991).

### a. Antioxidantes sintéticos

En la actualidad, el uso de los antioxidantes sintéticos, tales como el butilhidroxitolueno (BHT) y butilhidroxianisol (BHA), están siendo cuestionados y restringidos en la conservación de alimentos, debido a la propensión de producir cáncer en el hombre (Sing *et al.*, 2001; Zheng y Wang, 2001).

## **b. Antioxidantes naturales**

Dentro de los antioxidantes naturales podemos destacar a los antioxidantes nutrientes y los no nutrientes (Serra y Tribo, 1991).

**1) Antioxidantes nutrientes.** Entre éstos podemos mencionar a la Vitamina C, la que es eficaz para bloquear la formación de Nitrosaminas y Nitrosamidas (NNC), con actividad carcinógena. La Vitamina E participa en la estabilización de las membranas, la agregación plaquetaria y algunas actividades enzimáticas, además mejora las lesiones dérmicas, corrige el balance entre los ácidos grasos esenciales (Serra y Tribo, 1991).

**2) Antioxidantes no nutrientes.** Son compuestos fenólicos y polifenólicos entre los que destacan los bioflavonoides y por otro lado el ubiquinol, que regenera la forma activa de la Vitamina E. Los alimentos que contienen éstos derivados son el té, café, vino tinto, cebolla, ajo, aceitunas, soya, romero, salvia, etc., estos antioxidantes no pueden considerarse como vitaminas ya que no son esenciales en la alimentación humana o animal, se les considera pseudo vitaminas (Serra y Tribo, 1991).

## **c. Antioxidantes endógenos**

La célula posee sistemas enzimáticos antioxidantes, capaces de metabolizar los RL generados en los procesos redox celulares. La catalasa (peroxisomas) y la glutatión peroxidasa (GHX) (enzima selenio dependiente de localización mitocondrial y citosólica), que descomponen el peróxido de hidrogeno y la Superóxido Dismutasa

(SOD) (metaloenzima mitocondrial y citosólica) que descompone el  $O_2$ , son los más importantes. Las deficiencias de selenio, cobre, cinc o manganeso pueden condicionar una inadecuada actividad de las enzimas antioxidantes (Elejalde, 20001).

## C. POLIFENOLES

Los compuestos fenólicos o polifenólicos, constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, considerados como metabolitos secundarios de numerosas especies de plantas (Martínez-Valverde *et al.*, 2000; Friedman, 1997) (Figura 2), englobando más de 8000 compuestos distintos (Martínez-Valverde *et al.*, 2000). Hernández y Prieto (1999), mencionan que los polifenoles son un conjunto heterogéneo de moléculas que comparten la característica de poseer en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas.

La oxidación de los productos de los compuestos fenólicos, al parecer son involucrados en la defensa de las plantas contra la invasión de patógenos, incluyendo bacterias, fungi y virus, así como metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de éstas (Martínez-Valverde *et al.*, 2000; Friedman, 1997).

### 1. Efectos antimutagénicos y anticarcinógenos

El reciente interés de polifenoles en plantas se ha enfocado en el potencial benéfico en la salud humana, con particular referencia a los polifenoles de frutas y vegetales (Dreosti, 2000). Generalmente, la inhibición de mutagenicidad y de cáncer, desarrollado por los compuestos polifenólicos se debe a la capacidad

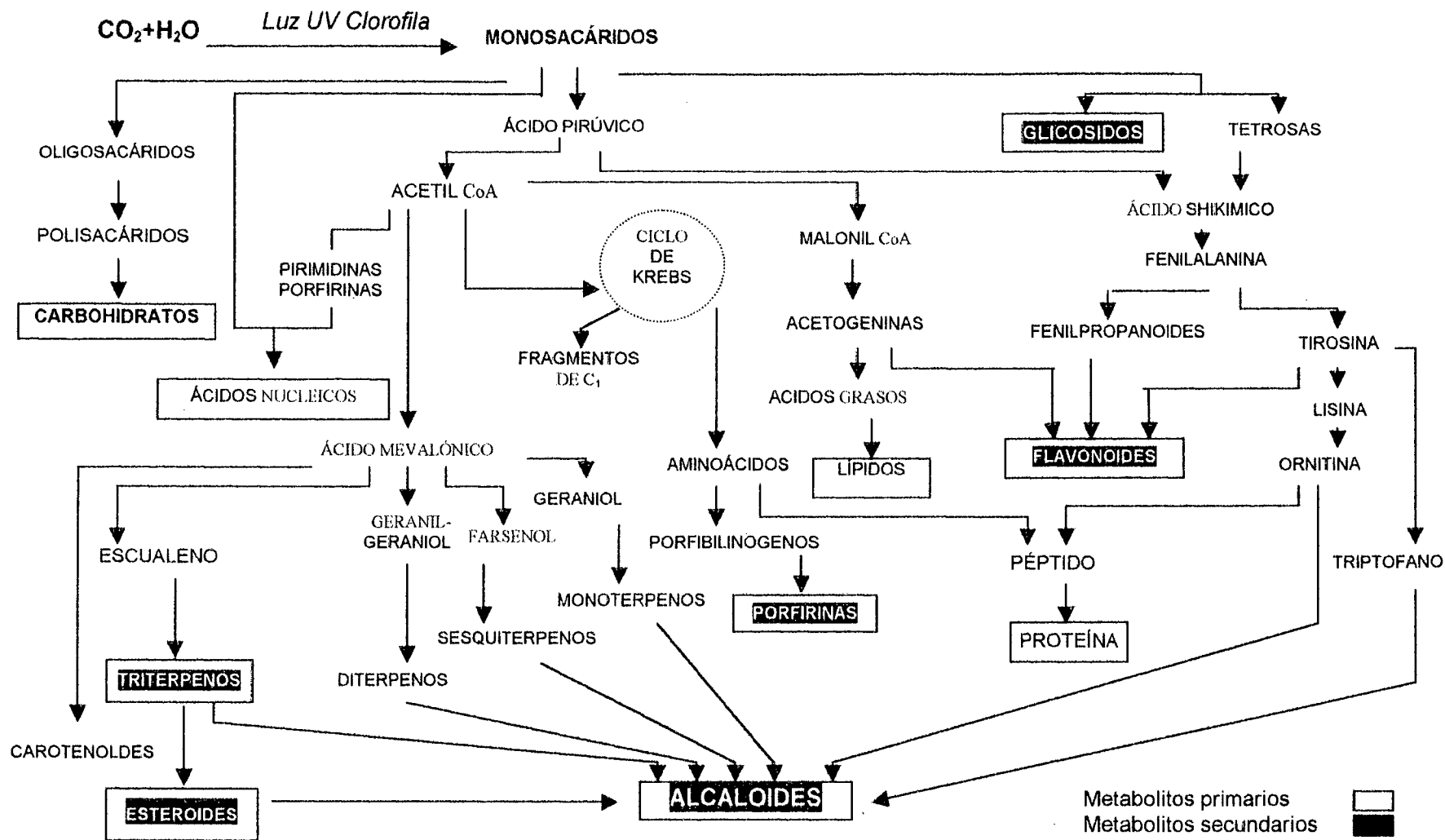


Figura 2. Metabolismo general de los productos naturales. Fuente: Vargas (2000).

de eliminar y atrapar potencialmente a los electrófilos dañadores del ADN, radicales libres y metales tóxicos, hasta la inhibición de enzimas activadores de precarcinógenos, hasta carcinógenos (Friedman, 1997). Generalmente, la absorción y metabolismo de los polifenoles es influenciado por la solubilidad y estructura química (Dreosti, 2000). Es evidente que algunos compuestos fenólicos, tanto los polifenoles extraíbles o los solubles son metabolizados en el tracto gastrointestinal, los compuestos fenólicos simples libres, los flavonoides (quercetina y genisteína) y los ácidos fenólicos pueden ser directamente absorbidos a través de la mucosa del intestino delgado (Martínez-Valverde *et al.*, 2000).

## **2. Relación de los compuestos fenólicos con la calidad organoléptica de los alimentos**

Los compuestos fenólicos están relacionados con la calidad sensorial de los alimentos de origen vegetal, tanto frescos como procesados, como su contribución al color a través de las antocianinas, responsables de los colores rojo, azul, violeta, naranja y púrpura de la mayoría de las plantas y de sus productos, las flavonas son los responsables del sabor amargo en los cítricos, las proantocianidinas o taninos condensados constituyen la principal fracción fenólica responsable de las características de astringencia de los alimentos vegetales, aunque la intensidad de éstas sensaciones depende del peso molecular del compuesto presente en el alimento, observándose que sólo los taninos con un peso molecular entre 500 y 3000 daltons,

pueden desarrollar una sensación de astringencia, además, la reacción de oxidación es catalizada por la enzima polifenol oxidasa, la que produce un pardeamiento enzimático en los alimentos, fenómeno de vital importancia para asegurar la calidad de frutas y verduras durante el procesado (Martínez-Valverde *et al.*, 2000).

**Cuadro 5.** Fuentes dietéticas de polifenoles con actividad antioxidante.

Compuesto	Alimentos
- Flavonoides	Vegetales, vino, fruta, té
- Ácidos Cinámicos y sus derivados	Café, frutas, té.
- Cumarinas	Aceite de Oliva, avena, especias, boniato
- Calconas	Frutas y vegetales coloreados, té, aceites comestibles.
- Taninos hidrolizados	Te, café, vino.

Fuente: Martínez-Valverde *et al.* (2000).

#### D. ÁCIDO ASCÓRBICO

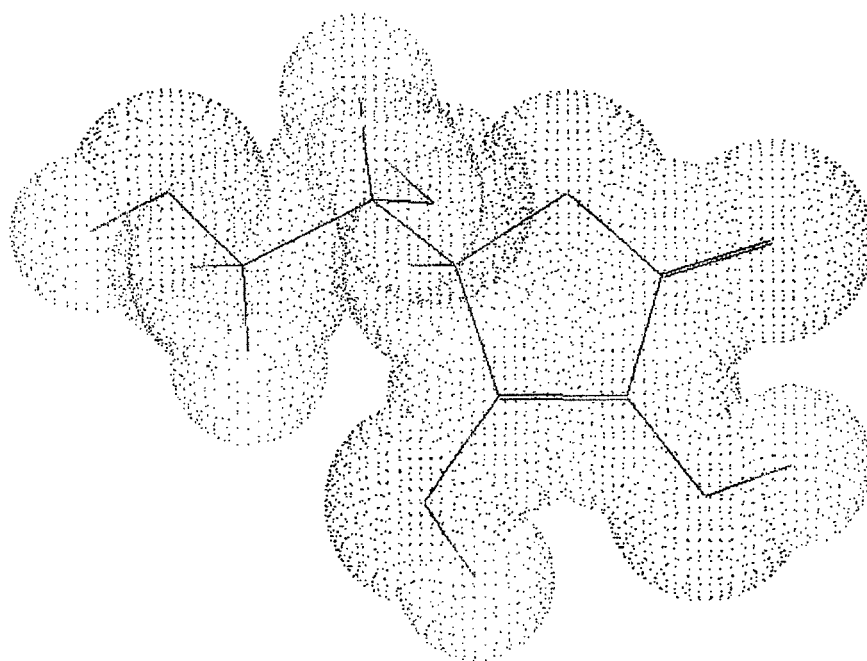
El ácido ascórbico es un importante antioxidante, así como en las funciones metabólicas de las plantas, animales y humanos, destacando a las plantas como la principal fuente de producción (Figura 3) (Muñoz, 1990; Wheeler *et al.*, 1998).

El ácido ascórbico tiene un efecto mediado por la interacción directa con varias especies reactivas de oxígeno, neutralizando el oxígeno singlete, el ozono, captura radicales hidroxilo, también neutraliza otras especies

reactivas como el ácido hipocloroso, óxido nítrico (Elejalde, 2001; García *et al.*, 2001; Rodríguez *et al.*, 2001).

Las propiedades físicas y químicas del ácido ascórbico, según Jhonson (1995) son:

-	Peso molecular (g/mol)	176,13
-	Punto de ebullición	190
-	Color	Blanco
-	Sabor	Ácido
-	Apariencia	Cristalina
-	Solución en agua (mg/mL)	330
-	Solución en aceite vegetal (mg/mL)	<1
-	Solución en etanol (mg/mL)	<1



**Figura 3.** Estructura química del ácido ascórbico.

El ácido ascórbico es estable en estado seco (Jhonson, 1995), sin embargo en solución, ésta sustancia llega a ser altamente reactiva, especialmente en presencia de oxígeno, y metales como el hierro y el cobre, considerándosele como la defensa más importante contra los radicales libres, eliminándolos de los compartimientos hidrofílicos de la célula, de la matriz extracelular y del sistema circulatorio, además, participa en la protección de las moléculas hidrofóbicas como las lipoproteínas del plasma sanguíneo y de los lípidos membranales (Jhonson, 1995; Elejalde, 2001).

Encontrándose en frutas como las fresas, grosella, acerola, los cítricos, el pimiento, perejil, nabo, también se puede encontrar en el hígado, riñón y leche, siempre y cuando la cocción u otras manipulaciones no lo hayan destruido (Serra y Tribo, 1991).

Está demostrado que presenta acción antioxidante por que reacciona directamente con los radicales peroxílos y regenera la Vitamina E oxidada en su forma activa en las membranas celulares (Tribo, 1994; Rodríguez *et al.*, 2001). Al ser una vitamina hidrosoluble se considera que es el antioxidante más importante del líquido extracelular, aunque participe también en la zona intracelular (Serra y Tribo, 1991). Las necesidades orgánicas diarias son de 45 mg/día, que son cubiertos habitualmente por una normal alimentación (Tribo, 1994), la FDA precisa entre 60-100 mg/día; sin embargo, en determinadas circunstancias son necesarios aportes más elevados, como es el caso luego de intervenciones quirúrgicas, procesos infecciosos y fumadores (Serra y Tribo, 1991).

## E. ANTOCIANINAS

Las antocianinas, son uno de los numerosos pigmentos naturales que se hallan en la savia alveolar (Fernández, 1995); siendo responsable de muchos de los colores de las frutas, vegetales, flores y otros tejidos de las plantas (Cuadro 6) (Dao *et al.*, 1998). Ellos juegan un rol definitivo en la atracción de animales, en la polinización, así mismo desempeñan un rol en la resistencia contra el ataque de insectos (Wang *et al.*, 1997). El término de antocianina, fue utilizado por Marquat en 1835, para designar a los pigmentos azules de las flores. Más tarde se descubrió que no solo el color azul, sino que también el púrpura, violeta, magenta y que todos los tonos de rojo, rosado, escarlata, que aparecen en muchas flores, frutas y algunas hojas y raíces de plantas, se deben a pigmentos químicamente similares a las antocianinas de Marquat (Sing, 1997).

**Cuadro 6.** Color y distribución de las mayores antocianinas en algunas frutas y vegetales comunes.

Compuesto	Color	Frutas y Vegetales
Delphinidin	Violeta	Uva, granos oscuros, arándano
Cyanidin	Rojo-naranja	Fresa, zarzamora, cereza, col roja, arándano, cebolla roja, maíz, frambuesa, arándano, grosela negra.
Pelargonidin	Naranja	Fresa, maíz.
Malvinidin	Violeta	Uva, arándano.
Peonidin	Rojo	Cereza, arándano, patatas dulces, ciruela.

Fuente: Wang *et al.* (1997).

El consumo de antocianinas en U.S, está estimado en el rango de 180 – 215 mg/día, debido a la amplia distribución y presencia en frutas y vegetales (Cuadro 7) (Kuhnau, 1976).

A pesar de su alto potencial benéfico fisiológico hacia los humanos, las antocianinas no son bien estudiadas. No obstante, las antocianinas muestran un efecto terapéutico positivo, incluyendo en el tratamiento contra la diabetes (Scharrer y Ober, 1981), enfermedades a los senos en mujeres (Leonardi, 1993), y la visión (Poltzer, 1977; Timberlake y Henry, 1988).

Las antocianinas del *Vaccinium myrtillus*, previnieron la arterioesclerosis inducida, en conejos (Kadar *et al.*, 1979). Las antocianinas también poseen potenciales fisiológicos, como agentes antineoplásicos (Kamei *et al.*, 1995), agentes protectores contra la radiación (Minkova *et al.*, 1990; Akhmadieva *et al.*, 1993), agentes vaso tónicos (Colantuoni *et al.*, 1991), agentes vaso protectivos y antiinflamatorios (Lietti *et al.*, 1976), agentes quimioprotectores contra la toxicidad del platino y anticancerígeno (Karaivanova *et al.*, 1990) y como agente hepatoprotector contra el daño del carbón tetrachlorhidro (Mitcheva *et al.*, 1993) y la posibilidad de otros efectos debido a las diversas acciones en varias enzimas y procesos metabólicos (Carpenter *et al.*, 1976; Wheeler *et al.*, 1976; Ferrell *et al.*, 1979; Gibb *et al.*, 1987; Saija *et al.*, 1990; Constantino *et al.*, 1995). Sin mostrar efectos adversos en animales alimentados con colorantes extraídos de uvas (Becci *et al.*, 1983). Además no se han registrado efectos adversos en humanos al consumir antocianinas, siendo aprobado

por la FDA (Administración de Alimentos y Drogas) para el uso como colorantes naturales (Timberlake y Henry, 1988).

**Cuadro 7.** Contenido total de antocianinas en algunas frutas y vegetales.

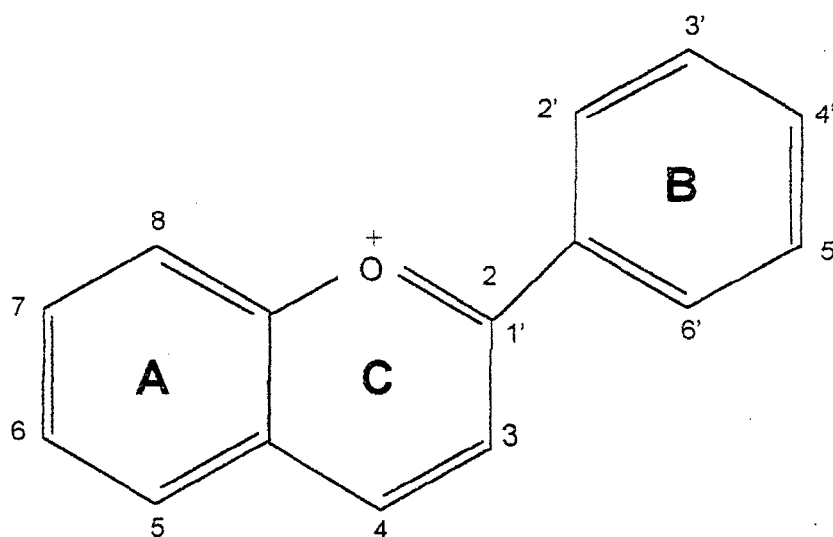
Frutas y vegetales	Antocianinas totales (mg/100g)
Arándano	25 – 495
Frambuesa	
Negro	214 – 428
Rojo	20 – 60
Cereza dulce	350 – 450
Arándano	78
Jugo de arándano	18 – 87
Fresa	7 – 30
Jugo de fresa	21 – 333
Uva roja	30 – 750
Pasas	
Negro	250
Rojo	12 – 19
Manzana	10
Col roja	25
Cebolla roja	9 - 21

Fuente: Adaptado de Mazza y Miniati (1993); Kikoku *et al.* (1995).

### 1. Estructura química

Las antocianinas aunque muy numerosas, están basadas químicamente en una única estructura aromática, aquella de la cianídina, y todas son consideradas derivadas de ella por adición o sustracción de grupos hidroxilo por metilación o glicosidación, dando una amplia variedad de colores (Figura 4 y Cuadro 8) (Fernández, 1995; Sing, 1997). Fenia y Hoagland, mencionados por Fernández

(1995), manifiestan que los azúcares encontrados unidos a las antocianinas, en mayor proporción son: Glucosa, ramnosa, galactosa, xilosa y arabinosa, también pueden tener una o más moléculas de ácido p-cumárico, ferúlico, caféico, acético, parahidroxibenzoico, unido a la molécula de azúcar por esterificación.



**Figura 4.** Estructura general de la antocianina y partes sustituidas de algunos compuestos comunes. Fuente: Wang *et al.* (1997).

**Cuadro 8.** Partes sustituidas de las antocianinas.

Aglicona	3	5	7	3'	4'	5'
Delphinidin	OH	OH	OH	OH	OH	OH
Cyanidin	OH	OH	OH	OH	OH	H
Pelargonidin	OH	OH	OH	H	OH	H
Malvinidin	OH	OH	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>
Pennidin	OH	OH	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	H

Fuente: Wang *et al.* (1997).

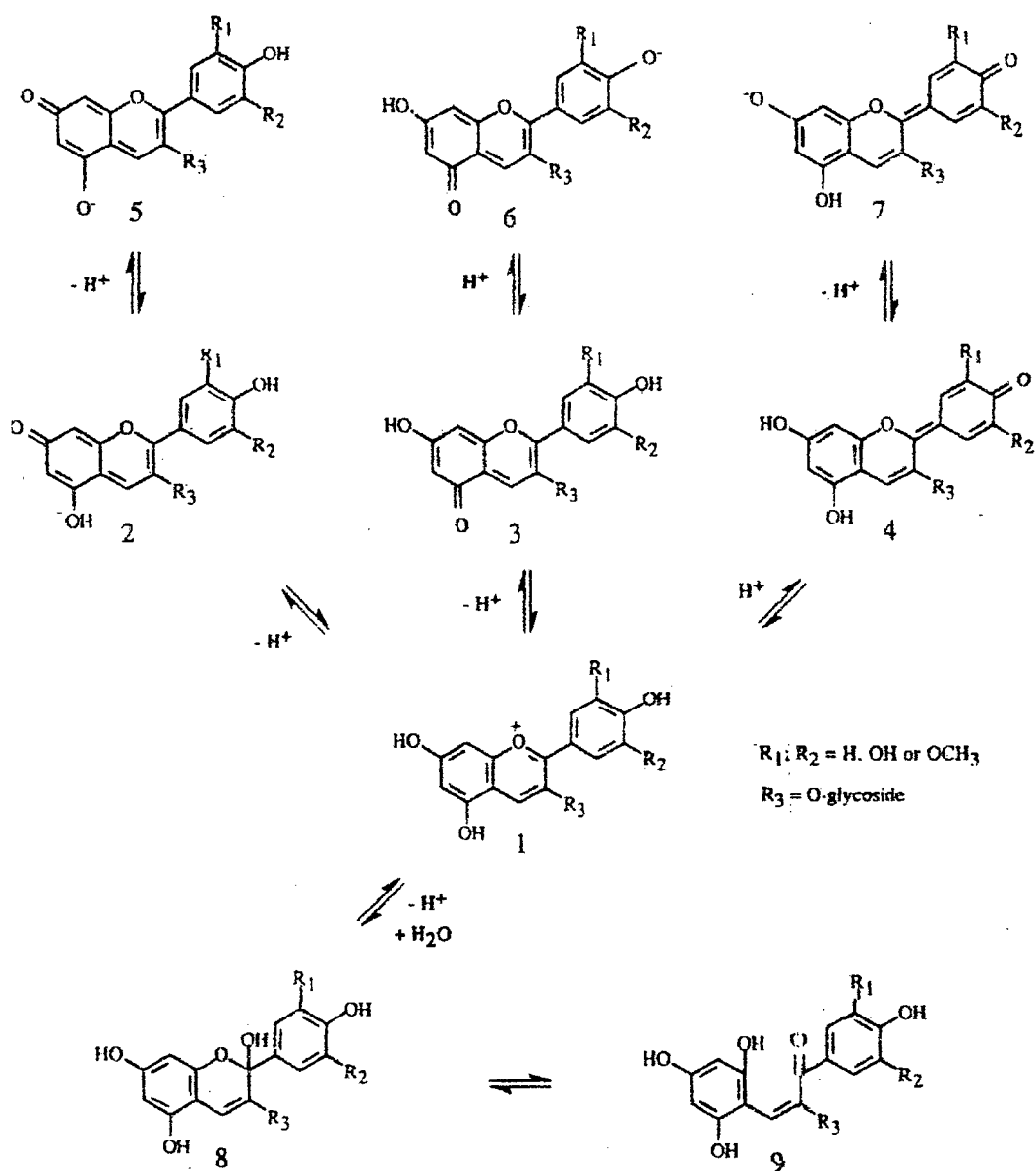
## 2. Factores que influyen en la estabilidad de las Antocianinas

Por la existencia del “electrón deficiente”, los núcleos flavilium de las antocianinas son altamente reactivas y por lo tanto, sufren fácilmente cambios indeseables en la estructura y color, bajo diversas condiciones de procesamiento y almacenamiento de productos alimenticios (Fernández, 1995), siendo acelerada por los siguientes factores:

**pH.** El color presentado por las antocianinas es altamente influenciado por el pH del medio (Figura 5) (Dao *et al*, 1998). A pH 3 o menos, el pigmento esta presente como sales flavilo de color rojo, a pH 8 es de color violeta, a pH 11 de color azul, debido a estos cambios de color fueron llamados “camaleones” vegetales (Sing, 1997).

**Azúcares.** La función de los azúcares sobre la estabilidad de las antocianinas es muy compleja, se ha observado que la fructosa es más perjudicial que la glucosa y que la sucrosa. Respecto a esto nos indica que las especies reactivas en la degradación de antocianinas son el Furfural e Hidroximetilfurfural (Sing, 1997; Fernández, 1995).

**Enzimas.** Otro de los factores a la que ha sido atribuida la perdida de la antocianina ha sido atribuido a la actividad del sistema enzimático antocianaza y fenolasa, así mismo la polifenoloxidasa contribuye a la destrucción de la antocianina (Fernández, 1995).



**Figura 5.** Transformaciones estructurales de las antocianinas en solución acuosa a diferentes valores de pH. 1 = Cation flaviium (color rojo a anaranjado), 2 – 4 = Bases neutrales quinoidales (color púrpura a violeta), 5 – 7 = Bases quinoidales ionizadas (color azul), 8 = Pseudobase carbinol (colores claros), 9 = Pseudobase calcona (colores claros). Fuente: Dao *et al.*, (1998).

**Ácido ascórbico y oxígeno.** La presencia de ácido ascórbico produce decoloración de la antocianina, probablemente por la indirecta oxidación por el peróxido de hidrógeno que se forma durante la oxidación aeróbica del ácido ascórbico, de igual manera las antocianinas son oxidadas en presencia del oxígeno (Fernández, 1995; Sing, 1997).

La inestabilidad puede ser evitado por la reacción de las antocianinas con otros flavonoides, como el Flavan-3-ols, que estabiliza la base quinoidal y mejora la resistencia al dióxido de sulfuro (usado como conservante). Alternativamente a ésto, es posible emplear antocianinas aciladas el cual es más estable que los análogos no acilados (Dao *et al.*, 1998).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### A. LUGAR DE EJECUCIÓN

El trabajo de investigación se ejecutó en los laboratorios de Análisis de Alimentos y Semillas, de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, en Tingo María, ubicado a 665 msnm, a 09° 17' 08" de Latitud Sur, a 75° 59' 52" de Longitud Oeste, con una temperatura y humedad relativa promedio de 24°C y 83.5 % respectivamente, en el distrito de Rupa Rupa, Provincia de Leoncio Prado, Región Huánuco.

#### B. MATERIA PRIMA Y REACTIVOS

##### 1. Materia prima

El camu camu (*Myrciaria dubia* Mc Vaugh H.B.K) obtenido del sector la Chancadora fundo "Nueva Esperanza", Provincia de Padre Abad (Aguaytía), Región Ucayali.

##### 2. Reactivos

2,2-diphenyl-1-picrilhydrazyl (DPPH), 2,2'-azobis-amidinopropano (ABAP) 2,2-azinobis(3 - etilenobenzotiazolino - 6 ácido sulfónico) (ABTS), de Sigma Chemical Co, USA; persulfato de potasio, ácido gálico, ácido ascórbico, cloruro de sodio, fosfato de potasio, difosfato de sodio, cloruro de hierro, ferrocianuro de potasio, ácido clorhídrico, de Panreac Química S.A. España; Etanol de 96°; 2,6-diclorofenolindofenol de Riedel de Haen Alemania.

## C. MATERIALES

### 1. Materiales de laboratorio

Se usó matraces, vasos de precipitación de 50 y 100 mL, fioles de 50 y 100 mL, bolsas de polietileno de densidad media, tubos de ensayo, gradillas, probetas de 10 y 100 mL, termómetro de 0 - 100 °C, micropipetas de 20 - 200  $\mu$ L y 200 - 1000  $\mu$ L, tips de 200 y 1000  $\mu$ L, tubos de plástico de 15 y 50 mL, cubetas de poliestireno (1 cm X 1 cm X 4.5 cm), papel filtro N° 40, pizeta.

### 2. Equipos de laboratorio

Se usó balanza analítica de Ohaus (0.0001 g). Co, Suiza; potenciómetro de Inolab. Co, Alemania; refractómetro de Labor MIN, Hungría; estufa de Lab-line, USA; refrigeradora de Admiral, USA; espectrofotómetro Génesis 8-England, con interfase de salida a un ordenador Tipo 486, con monitor Samsung 15"; agitador magnético, empacadora a vacío (Marca: Multivac – Modelo: A300/76 – Presión de trabajo: 999-1 mbar), molino de cuchillas (Marca: Laboratory Mill – Modelo: 04 – Serie: 641102 – Tipo: 335-1310), secador a vacío ( de 0 – 1 Kp/cm<sup>2</sup>, 0 – 100 °C serie 334,051).

## D. MÉTODOS DE ANÁLISIS

### 1. Cuantificación de antocianinas

Se realizó por el método del pH diferencial reportado por Rapisarda *et al.* (2000).

## **2. Cuantificación de ácido ascórbico**

Se realizó por el método reportado por Hung y Yen (2002).

## **3. Cuantificación de polifenoles totales**

Se realizó mediante el método de Azul de Prussian, reportado por Price y Butler (1977).

## **4. Evaluación de la actividad antioxidante**

### **a. Radical 2,2-diphenyl--picrilhydrazyl (DPPH)**

Se evaluó mediante el método descrito por Brand-Williams *et al.* (1995), de inhibición del radical DPPH°, modificado por Sandoval *et al.* (2001).

### **b. Cation 2,2-azinobis(3 – etilenobenzotiazolino - 6 ácido sulfónico) (ABTS<sup>+</sup>)**

Se evaluó mediante el método descrito por Pelligrini *et al.* (1999).

### **c. Radical peroxilo**

Se empleó el método de TRAP (poder total de actividad reductora) modificado por Sandoval *et al.* (2001).

## E. METODOLOGÍA

### 1. Cuantificación de antocianinas, ácido ascórbico y polifenoles totales en la cáscara de camu camu

#### a. Preparación de la muestra

**Primera etapa.** Los frutos de camu camu, en tres estados de madurez (maduro, pintón y verde) fueron separados de su pulpa, cáscara y semilla, en forma manual con la ayuda de un tamiz, en pulpa se realizó la medición de pH, °Brix, la medición de acidez se realizó por el método de titulación potenciométrica, reportado por la A.O.A.C, 2789.56; 569.482 (1995), lográndose establecer el índice de madurez (°Brix / % Acidez), en cáscara se evaluó el contenido de antocianinas y ácido ascórbico, realizándose la extracción acuosa de acuerdo a lo indicado por Sandoval *et al.* (2001) y Buratti *et al.* (2001).

**Segunda etapa.** La cáscara restante, se secó a vacío, (60 Kp/cm<sup>2</sup> y 48 °C ± 2), luego fue molido en un molino de cuchillas, con malla de 1 mm de abertura, seguidamente fue empacada a vacío (presión: 250 mbar), y almacenado a temperatura de congelación, para posteriormente evaluar el contenido de ácido ascórbico, antocianinas, polifenoles totales y actividad antioxidante, realizándose la extracción acuosa de acuerdo a lo indicado por Sandoval *et al.* (2001) y Buratti *et al.* (2001).

#### b. Cuantificación de antocianinas

Se pesó 0,5 g de muestra y se sometió a agitación por 15 minutos usando como solvente agua (Sandoval *et al.*, 2001 y Buratti *et al.*,

2001), del filtrado, se tomó dos alícuotas (cada alícuota de 2 mL). Una alícuota se diluyó con el buffer de pH 1,0 y la otra alícuota con buffer de pH 4,5, la absorbancia fue registrada a 510 nm, la concentración de antocianinas fue calculada mediante la siguiente ecuación:

$$C(\text{mg/mL}) = (A_{\text{pH}=1,0} - A_{\text{pH}=4,5}) * 482,82(1000/24825) * \text{DF} \dots\dots\dots (1)$$

Donde: 484,82 es la masa molecular de la cianidína-3-glucósido, 24825 es la absortividad molar a 510 nm, a pH = 1,0; pH = 4,5 es la corrección de la formación de productos de degradación, DF es el factor de dilución.

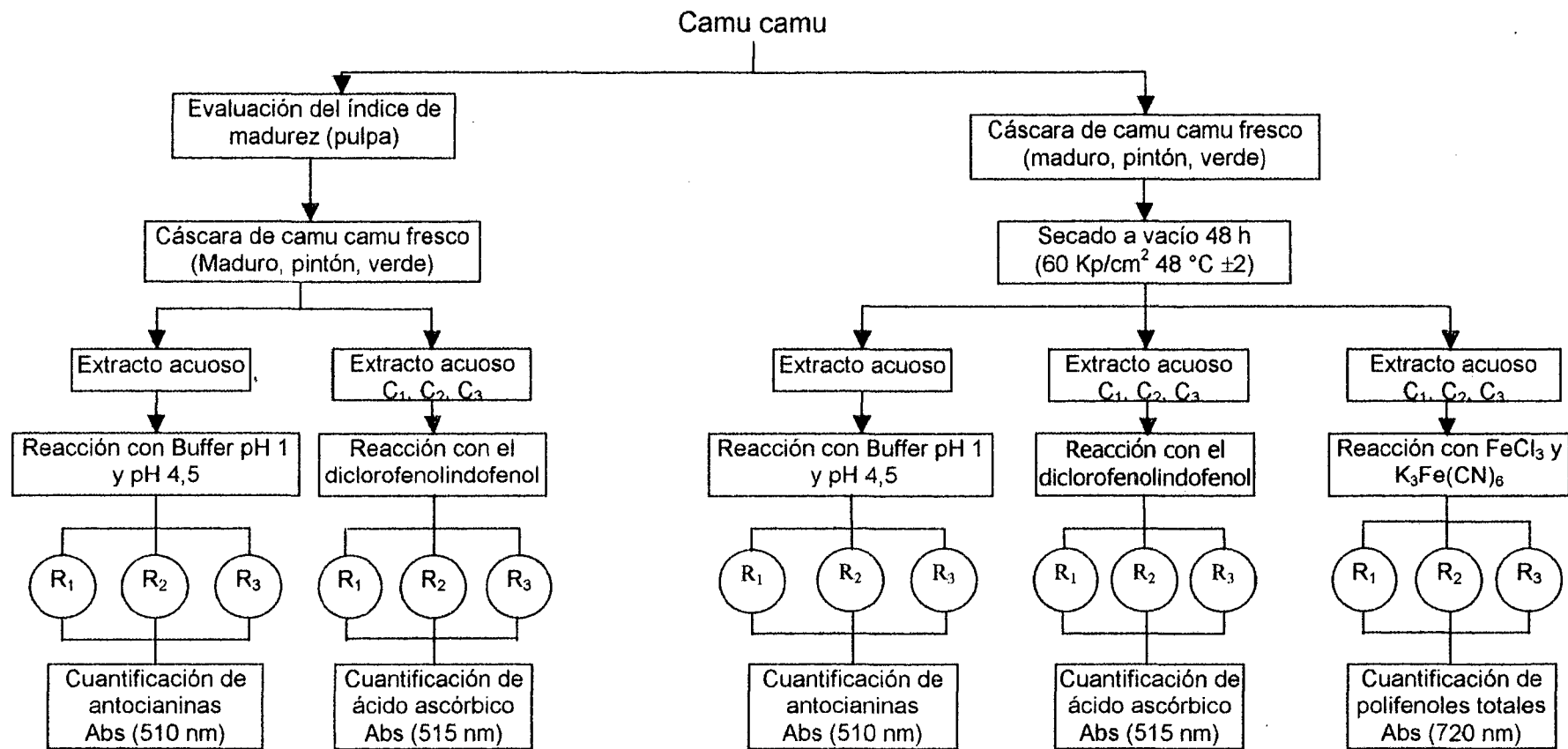
#### c. Cuantificación de ácido ascórbico

Se hizo reaccionar 100 µL de extracto acuoso, con 900 µL de 2,6 diclorofenolindofenol, registrándose la absorbancia a 515 nm, obteniéndose las cantidades de ácido ascórbico con la siguiente ecuación:  $A_{515 \text{ nm}} = A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}} \dots\dots\dots (2)$

Previamente se construyó una curva patrón (Anexo - II, Figura 24), donde la Absorbancia control fue obtenida por la reacción de 100 µL de ácido oxálico al 0,4%, con 900 µL de 2,6 diclorofenolindofenol.

#### d. Cuantificación de polifenoles totales

Se tomó 1 ml del extracto acuoso y se adicionó 3 mL de  $\text{FeCl}_3$  0,1M en HCl 0,1N, y 3 mL de 0,008M  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  la absorbancia fue registrada a 720 nm. Paralelamente se construyó una curva patrón (Anexo - III, Figura 25), los resultados se expresaron en g Ácido Gálico / g cáscara seca.



Donde:  $C_i$  ( $i = 1, 2$  y  $3$ ) : Concentraciones ( $\mu\text{g/mL}$ )  
 $R_i$  ( $i = 1, 2, \text{y } 3$ ) : Repeticiones

**Figura 6.** Secuencia para la determinación del índice de madurez, ácido ascórbico, antocianinas y polifenoles totales, en la cáscara de camu camu.

## 2. Evaluación de la actividad antioxidante en la cáscara seca de camu camu en tres estados de madurez

### a. Radical 2,2-diphenyl-1-picrilhydrazyl (DPPH)

Se hizo reaccionar 50  $\mu\text{L}$  de muestra con 950  $\mu\text{L}$  de DPPH (100  $\mu\text{M}$ ) en etanol al 96 %, la absorbancia fue monitoreada a 515 nm, a intervalos de 30 segundos durante 10 minutos. Para la determinación de la actividad antioxidante, los resultados fueron expresados en términos de  $\text{IC}_{50}$ ,  $K_2$  y Poder Antirradical (Brand-Williams *et al.*, 1995).

#### 1) Coeficiente de inhibición ( $\text{IC}_{50}$ )

Se determinó mediante un análisis de regresión del porcentaje de remanente versus la concentración necesaria de los extractos, para inhibir el 50% del radical DPPH (Brand-Williams *et al.*, 1995).

El porcentaje de remanente del radical DPPH fue calculado de la siguiente manera:

$$\% \text{DPPH}_{\text{REM}} = \left[ \frac{(\text{DPPH})_f}{(\text{DPPH})_i} \right] * 100 \dots \dots \dots (3)$$

Donde  $(\text{DPPH})_f$  es la absorbancia del radical DPPH al final de la reacción,  $(\text{DPPH})_i$  es la absorbancia del radical al inicio de la reacción. El valor de  $\text{IC}_{50}$ , fue expresado en términos de Ácido Ascórbico Equivalente (AAE) (Kim *et al.*, 2002)

#### 2) Constante de velocidad $K_2$

Comprendió las siguientes etapas:

##### i) Construcción de la curva de calibración

Se construyó una curva de calibración del radical DPPH con concentraciones de 1, 10, 20, 40, 60, 80, 100  $\mu\text{M}$ .

## ii) Constante de velocidad $K_2$

Los valores de absorbancia obtenidos por la decoloración del DPPH para cada concentración de las soluciones de trabajo de la cáscara de camu camu en tres estados de madurez, en estudio, fueron analizados mediante el programa STATISTICA/W ver 5,0 (Stat Soft Inc, 1993). Para el cálculo del parámetro "b" se usó el modelo matemático propuesto por Porto *et al.* (2000).

Ecuación:  $A = (t+1)^b a$  ..... (4)

Donde: A, es la absorbancia en cualquier tiempo t.

a y b, son constantes

t, es el tiempo de la reacción

En el Anexo – IV y la Figura 25, se muestra la curva, que sirvió para calcular el valor de  $K_2$  para los extractos acuosos de la cáscara de camu camu en tres estados de madurez.

## 3) Poder antirradical

El poder antirradical, referido a la eficiencia de un antioxidante, fue evaluado de acuerdo a la metodología descrita por Brand-Williams *et al.* (1995).

Para tener una mejor claridad sobre la capacidad que tiene un antioxidante para inhibir radicales libres, en esta parte del trabajo, se hizo uso del Software de Sistema de Modelamiento Molecular - HyperChem (Versión 6,01 - 2000), determinando el Análisis

Conformacional de Mínima Energía, reportado por Van Acker *et al.* (1996); Vajragupta *et al.* (2000) y Webb *et al.* (2000).

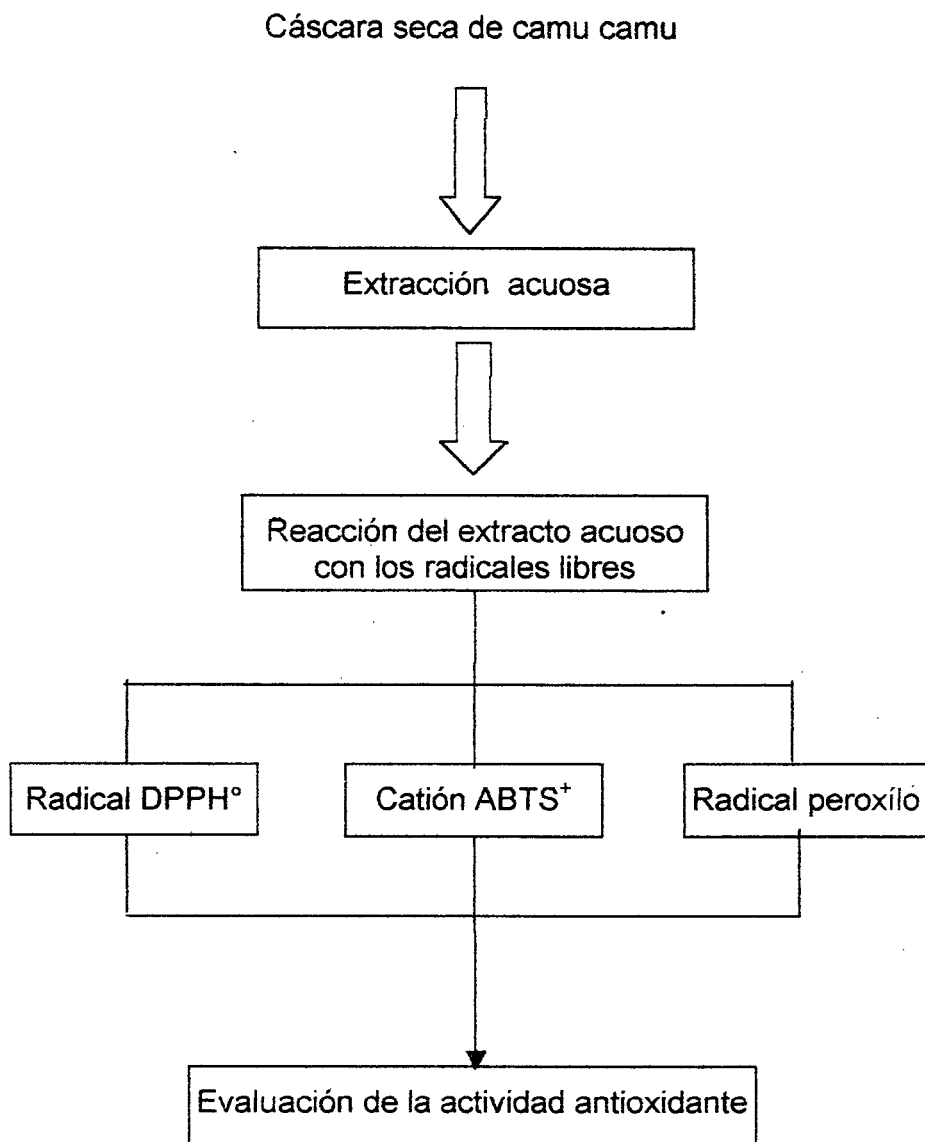
**b. Cation 2,2, - azinobis (3 - etilenbenzotiazolino-6 ácido sulfónico) (ABTS<sup>+</sup>)**

100  $\mu\text{L}$  de las diluciones de los extractos acuosos de cáscara de camu camu seco en tres estados de madurez y a diferentes concentraciones, se hizo reaccionar con 900  $\mu\text{L}$  de ABTS<sup>+</sup> por un tiempo de 10 minutos, registrándose la absorbancia a 734 nm a intervalos de 30 segundos.

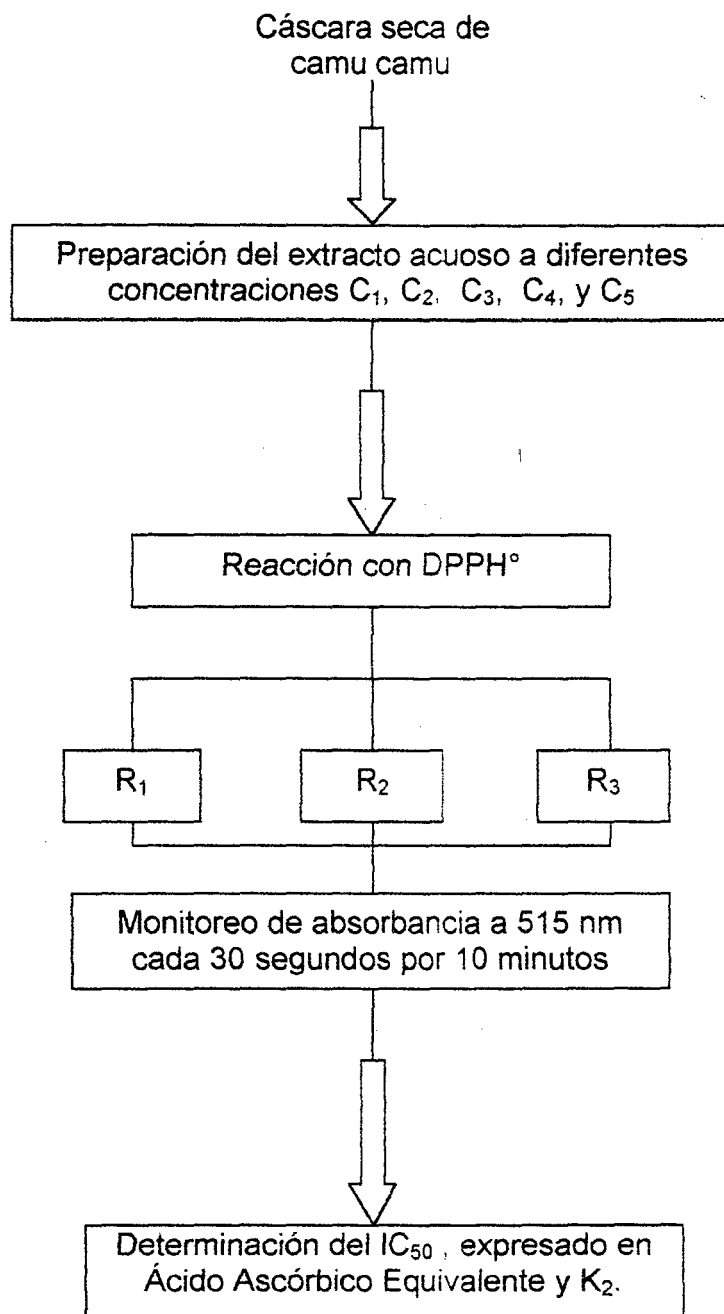
La actividad antioxidante fue expresada como IC<sub>50</sub>, y en términos de Ácido Ascórbico Equivalente (AAE) (Kim *et al.*, 2002), obtenido de una curva estándar construido en el rango de 1 – 25  $\mu\text{M}$  de ácido ascórbico (Anexo - V, Figura 31). (Pelligrini *et al.*, 1999).

**c. Radical peroxílo**

10  $\mu\text{L}$  de los extractos acuosos a diferentes concentraciones de la cáscara seca de camu camu en diferentes estados de madurez, se hizo reaccionar con 990  $\mu\text{L}$  de la solución stock de radical peroxílo. La disminución de la absorbancia fue registrada a 414 nm a intervalos de 30 segundos durante 10 minutos. La actividad antioxidante fue expresado como IC<sub>50</sub>, y en términos de Ácido Ascórbico Equivalente (AAE) (Kim *et al.*, 2002) (Anexo - VI, Figura 36), obtenido de la construcción de la curva estándar en el rango de 1 – 20  $\mu\text{M}$  de ácido ascórbico.



**Figura 7.** Secuencia experimental para evaluar la actividad antioxidante de los extractos acuosos de la cáscara de camu camu, usando diferentes radicales.

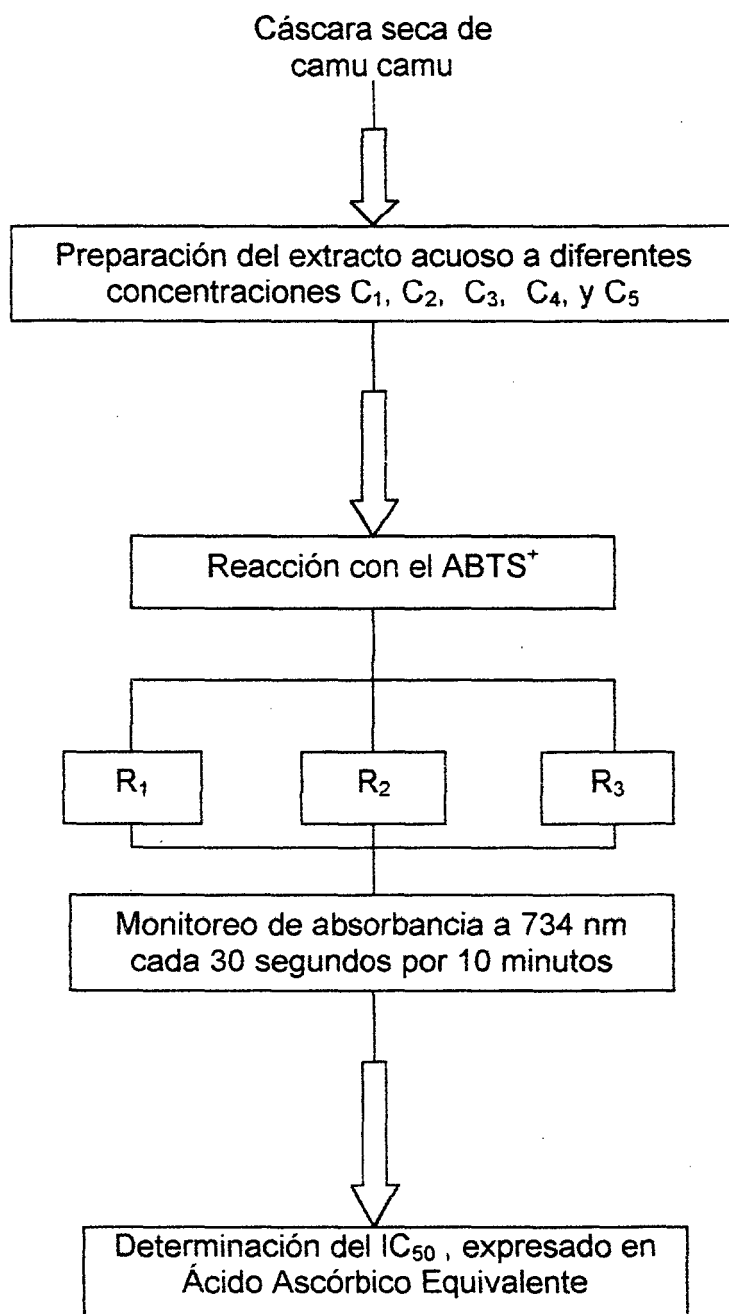


**Leyenda:**

$C_i$  ( $i=1,2,3,4$  y  $5$ ) : Concentración ( $\mu\text{g/ml}$ )

$R_i$  ( $i=1,2$  y  $3$ ) : Repeticiones

**Figura 8.** Secuencia experimental para evaluar la actividad antioxidante de los extractos acuosos de la cáscara de camu camu por el método del radical  $DPPH^\circ$ .

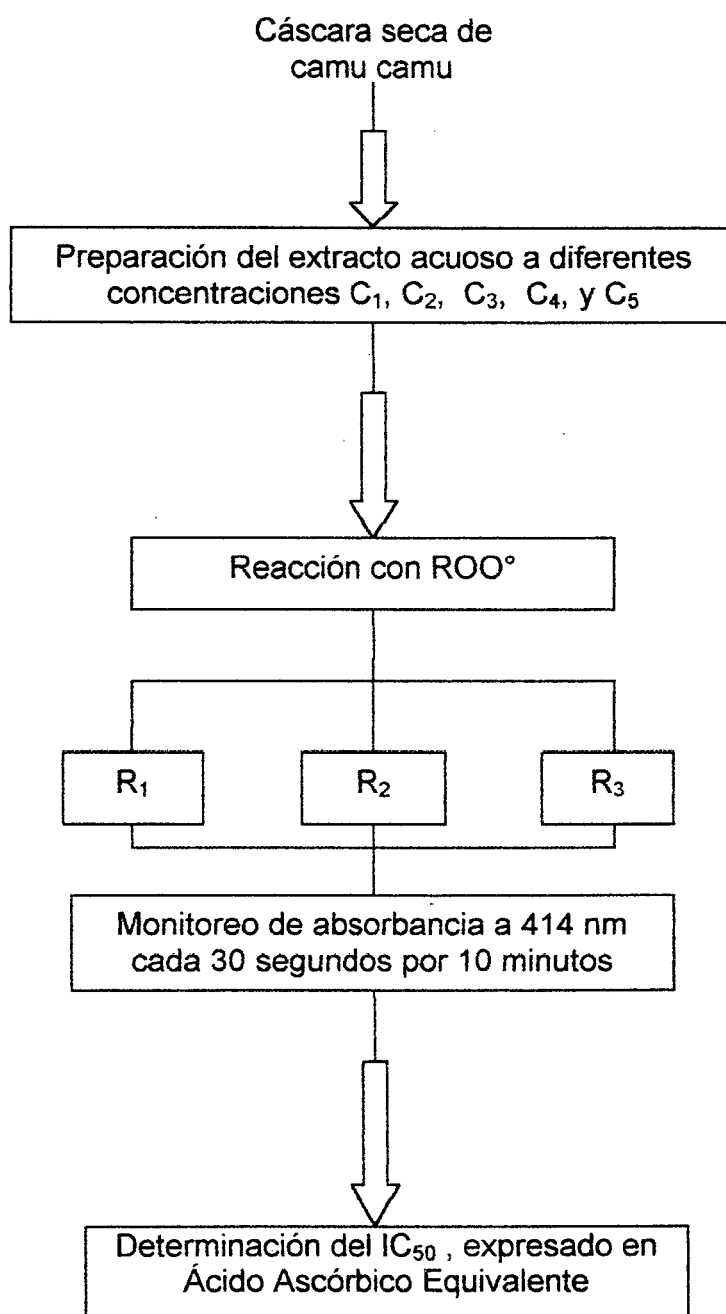


**Leyenda:**

C<sub>i</sub> (i = 1, 2, 3, 4 y 5) : Concentración (µg/ml)

R<sub>i</sub> (i = 1, 2 y 3) : Repeticiones

**Figura 9.** Secuencia experimental para evaluar la actividad antioxidante de los extractos acuosos de la cáscara de camu camu por el método del catión ABTS<sup>+</sup>.



**Leyenda:**

C<sub>i</sub> (i=1,2,3,4 y 5) : Concentración (µg/ml)

R<sub>i</sub> (i=1,2 y 3) : Repeticiones

**Figura 10.** Secuencia experimental para evaluar la actividad antioxidante de los extractos acuosos de la cáscara de camu camu por el método del radical Peroxílo.

## F. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

### 1. Análisis de regresión no lineal (ARnol)

Los datos de absorbancia registrados para los modelos in vitro del radical DPPH°, Cation ABTS<sup>+</sup>, y radical Peroxílo fueron evaluados mediante un Arnol para determinar el IC<sub>50</sub> (Brand-Williams *et al.*, 1995).

### 2. Análisis de regresión lineal

Los datos de absorbancia registrados para los modelos in vitro del radical DPPH°, cation ABTS<sup>+</sup> y radical Peroxílo, fueron sometidos a un análisis de regresión lineal para determinar el K<sub>2</sub>, asimismo los datos de absorbancia de polifenoles totales y ácido ascórbico, para ser expresados en términos de Ácido Gálico Equivalentes (AGE) y Ácido Ascórbico Equivalente (AAE), respectivamente (Espín *et al.*, 2000; Kim *et al.*, 2002; Calzada, 1976).

### 3. Estadística descriptiva

Los valores calculados en las pruebas de actividad antioxidante, polifenoles totales, ácido ascórbico y antocianinas fueron expresados como promedio ± desviación estándar (Calzada, 1976; Rodríguez, 1991).

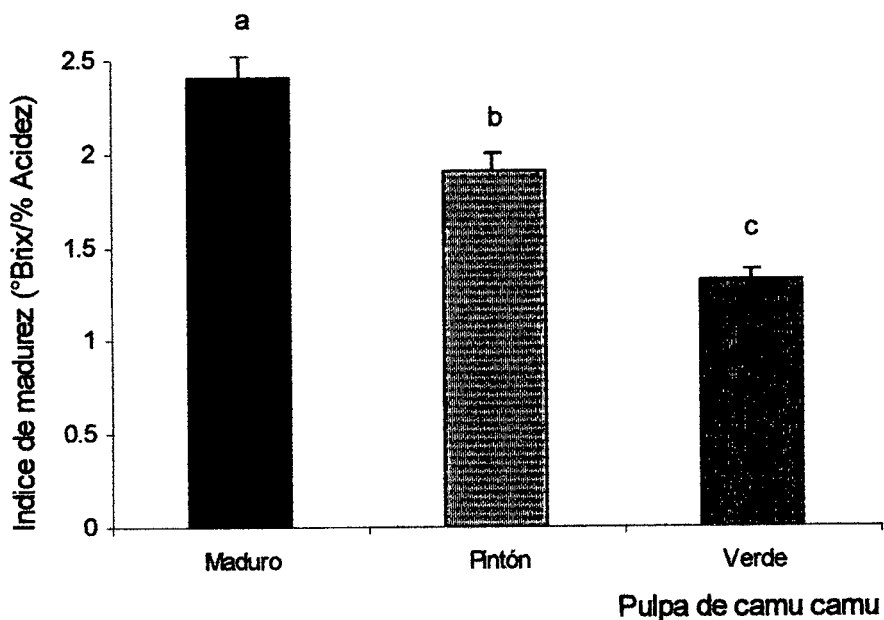
### 4. Análisis de varianza

Los valores de IC<sub>50</sub> y cantidad de ácido ascórbico, antocianinas y polifenoles totales, se evaluaron estadísticamente mediante un Diseño Completo al Azar -DCA-, con tres repeticiones, usando la prueba de t student  $p < 0,05$  (Calzada, 1976; Rodríguez, 1991).

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### A. ÍNDICE DE MADUREZ

En la Figura 11, se muestra los resultados del índice de madurez realizados al fruto de camu camu, en tres estados de madurez.



Datos expresados en media  $\pm$  SD, n = 3, p < 0,05.

**Figura 11.** Índice de madurez de la pulpa de camu camu, en tres estados de madurez.

El índice de madurez (°Brix/% Acidez), mediante el cual, se midió la madurez fisiológica del fruto, fue de  $2,41 \pm 0,03$ ;  $1,90 \pm 0,01$  y  $1,31 \pm 0,01$  (p < 0,05), para la fruta madura, píntón y verde respectivamente, que nos indica, el estadio de desarrollo de la fruta, que está generalmente asociado con la comestibilidad óptima (Wills *et al.*, 1984). Zapata y Dufour (1993), obtuvieron 2,2; 1,8 y 1,6 para la fruta madura, píntón y verde,

respectivamente. Observándose que los resultados obtenidos coinciden con los resultados obtenidos por Zapata y Dufour (1993) (Anexo - I).

## B. CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS

En el Cuadro 9, se muestra que el contenido de antocianinas, observándose que en estado fresco la cáscara madura de camu camu, presenta mayor contenido.

**Cuadro 9.** Contenido de antocianinas en la cáscara de camu camu.

<b>Cáscara</b>		<b>Cianidina-3-glucósido (mg/L)<sup>1</sup></b>
<b>Fresco</b>	Maduro	46,42 ± 0,52 <sup>a</sup>
	Pintón	3,83 ± 0,11 <sup>b</sup>
<b>Seco</b>	Maduro	ND
	Pintón	ND

<sup>1</sup>Datos expresados en media ± SD, n=3, p < 0,05. ND: No detectado.

El proceso de extracción es afectado por factores de temperatura, la velocidad de agitación, polaridad del solvente, el tamaño de la partícula que permiten lograr un buen contacto del sólido con el solvente, los que incrementan el proceso de difusión, mejorando la transferencia de los diversos componentes sólidos, disminuyendo el tiempo de extracción, (Geankoplis, 1982; Singh y Heldman, 1998).

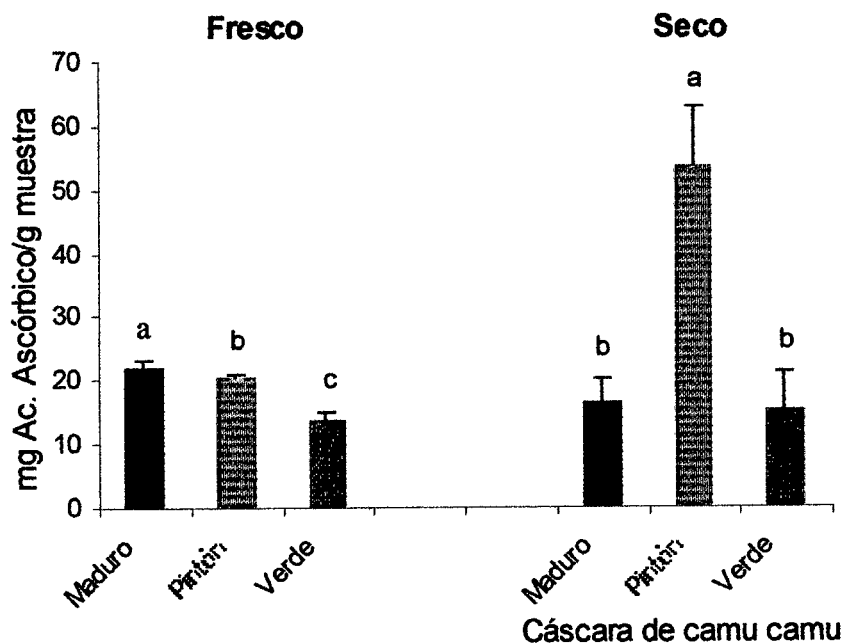
Luego del secado, las antocianinas no son detectadas, debido a que sufrieron degradación, básicamente al reaccionar con el ácido ascórbico (Ozkan, 2002), así como también con el peróxido de hidrógeno, que se forma a partir de la reacción del ácido ascórbico con el agua, y las

enzimas presentes en la cáscara de la fruta (Ozkan, 2002; Sing, 1997; Fernández, 1995).

Ozkan (2002), investigó la degradación cinética de antocianinas de frutas como la granada, fresa y cereza, usando peróxido de hidrógeno a diferentes concentraciones y temperaturas, encontrando que en solución acuosa, el peróxido de hidrógeno puede fácilmente descomponerse en productos muy reactivos como el anión Perhidroxil ( $\text{HOO}^-$ ) y el Hidroxil ( $^*\text{OH}$ ), llegando a la conclusión que el radical  $^*\text{OH}$  es la especie más reactiva que ataca al anillo benceno de los compuestos fenólicos, degradando al sustrato en  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ , asimismo da a conocer que las quinonas formadas por la oxidación de fenoles, pueden favorecer el deterioro de las antocianinas, estableciendo que la degradación cinética, fue del modelo de primer orden, logrando calcular el tiempo necesario de degradación del 50 % de antocianinas, encontrando que las antocianinas de la cereza presentan mayor resistencia, atribuyéndosele a la presencia de cianidinas, además estas frutas, poseen cantidades insignificantes de ácido ascórbico.

### C. CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO

En la Figura 12, se muestra los resultados de la cuantificación de ácido ascórbico en la cáscara de camu camu.



Datos expresados en media  $\pm$  SD, n = 3. p < 0,05.

**Figura 12.** Contenido de ácido ascórbico en la cáscara de camu camu en estado fresco y seco.

Como se puede observar, la mayor cantidad de ácido ascórbico en estado fresco se presenta en la cáscara de camu camu madura con  $21,95 \pm 1,18$  mg Ac. Ascórbico/g muestra, seguida por el pintón  $20,50 \pm 0,39$  mg Ac. Ascórbico/g muestra y luego la verde  $13,78 \pm 1,24$  mg Ac. Ascórbico/g muestra, (p < 0,05). Luego del secado, la mayor cantidad de ácido ascórbico se presenta en la cáscara del fruto pintón con  $53,49 \pm 9,40$  mg Ac. Ascórbico/g muestra, seguido por la cáscara del fruto maduro  $16,41 \pm 3,64$  mg Ac. Ascórbico/g muestra y luego la cáscara del fruto verde  $15,38 \pm 5,81$  mg Ac. Ascórbico/g muestra (p < 0,05), ésta variación de concentración de ácido ascórbico, presenta relación con el contenido de acidez (Anexo - I), debido

a que los ácidos presentes en la fruta, facilitan la degradación del ácido ascórbico, así como la presencia de enzimas, antocianinas, paralelamente el ácido ascórbico es deteriorado por la presencia de agua, que es proporcionado por la fruta (Lee y Chen, 1998; Bradshaw *et al.*, 2001).

#### D. CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES

En el Cuadro 10, se muestra los resultados de la cuantificación de polifenoles totales ( $p < 0,05$ ), para el cual se construyó una curva patrón (Anexo - III, Figura 24). Ésta prueba se basa en la reducción de los iones  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$ , por los polifenoles mostrando una coloración azul, formando el complejo ferrocianuro-ferroso, registrándose una máxima absorbancia a 720 nm teniendo como ventaja: a) La rapidez y simplicidad de la prueba debido a la formación del color azul, lo que ofrece sensibilidad y versatilidad para la determinación espectrofotométrica, b) Los resultados son directamente medidos del contenido de polifenoles solubles (Larry y Butler, 1977), obteniéndose en el extracto acuoso de la cáscara pintón de camu camu, mayor contenido de polifenoles.

**Cuadro 10.** Contenido de polifenoles totales en la cáscara seca de camu camu.

Cáscara	mg Ac. Gálico/g <sup>1</sup>
Maduro	6,02 ± 0,48 <sup>a</sup>
Pintón	7,70 ± 0,26 <sup>b</sup>
verde	5,95 ± 0,13 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Datos expresados en media ± SD, n = 3, p < 0,05.

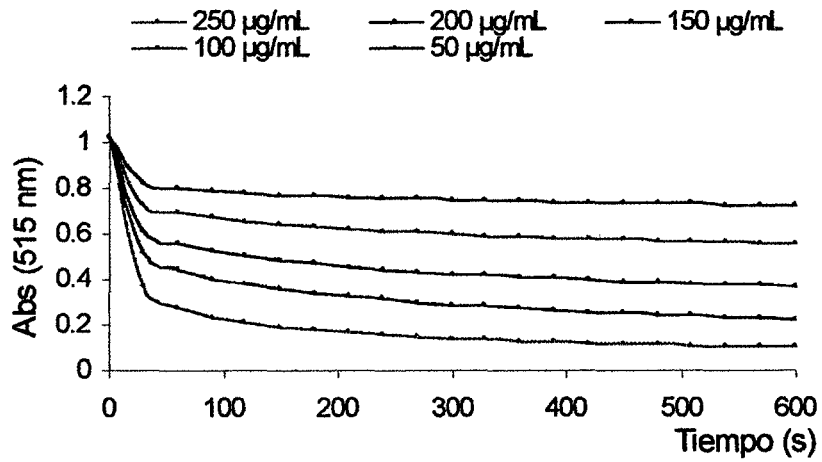
Kahkomen *et al.* (1999), cuantificaron el contenido de polifenoles usando el método de Folin-Ciocalteu, en muestras de cáscara de papa (*Solanum tuberosum* Rosamunda, 4,3 mg AGE/peso seco), papa (*Solanum tuberosum* Matilda, 2,5 mg AGE/peso seco), remolacha (*Beta vulgaris esculenta*, 4,3 mg AGE/peso seco), tomate (*Lycopersicum esculentum*, 2,0 mg AGE/peso seco), en hierbas medicinales de lupinus azul (*Lupinus angustifolius*, 4,7 mg AGE/peso seco), romero de pantano (*Andrómada polifoliaglaucophylla*, 32,8 mg AGE/peso seco), tomillo (*Tymus vulgaris*, 17,1 mg AGE/peso seco), y en el trébol rojo (*red clover*, 7,8 mg AGE/peso seco).

De acuerdo a éstos resultados, la cáscara de camu camu, presenta mayor contenido de polifenoles que la cáscara de papa, remolacha, tomate, lupinus azul y trébol rojo, siendo superado sólo por las muestras de tomillo y romero.

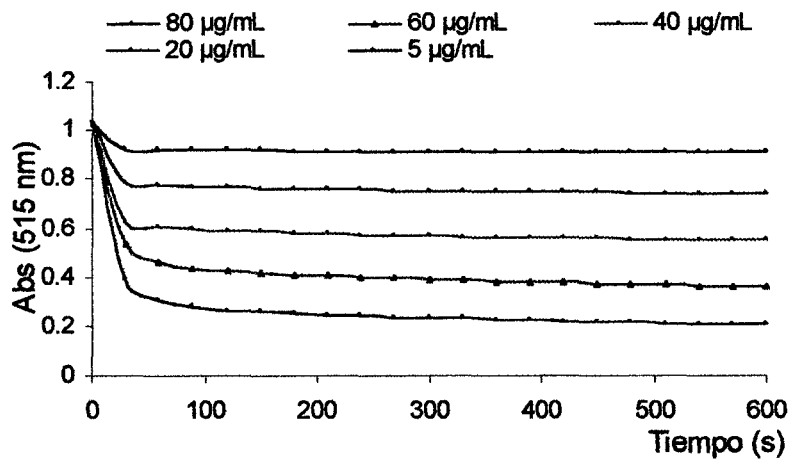
## **E. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE**

### **1. Radical 2,2 diphenyl-1-picrilhydrazyl (DPPH)**

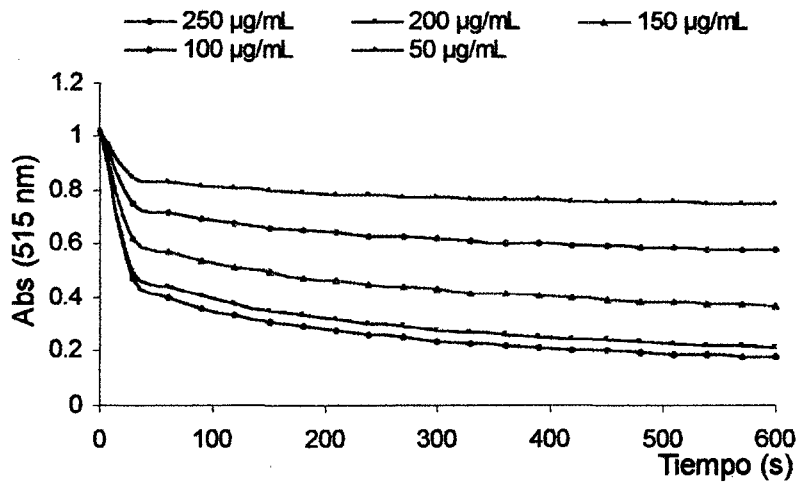
En las Figuras 13, 14 y 15, se muestran las cinéticas de reacción del radical DPPH frente a los extractos acuosos de la cáscara seca de camu camu en tres estados de madurez.



**Figura 13.** Cinética de reacción del radical DPPH frente al extracto acuoso de la cáscara de camu camu maduro.



**Figura 14.** Cinética de reacción del radical DPPH frente al extracto acuoso de la cáscara de camu camu pintón.



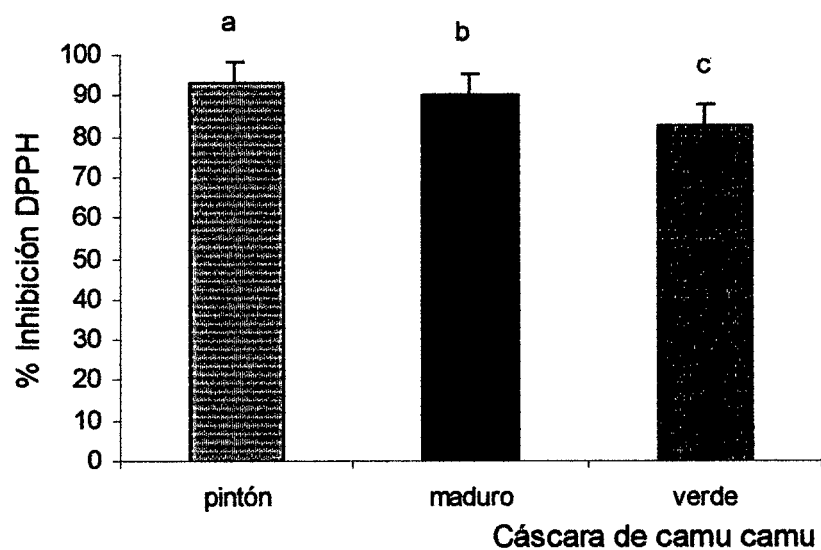
**Figura 15.** Cinética de reacción del radical DPPH frente a los extractos acuosos de la cáscara de camu camu verde.

El radical DPPH, es útil para evaluar la actividad antirradical de polifenoles (Lebeau *et al.*, 2000), así como la toxicidad en células y extractos microbianos (Ko *et al.*, 1998; Larrauri *et al.*, 1998; Hu y Kitts, 2000).

Los resultados de la actividad antioxidante de la cáscara de camu camu, muestran que el extracto acuoso de la cáscara pintón tuvo mayor eficiencia para inhibir el radical DPPH con  $92,89 \pm 0,44$  %; seguido con  $90,17 \pm 3,02$  % y  $82,62 \pm 8,54$  %; para la cáscara del fruto maduro y verde respectivamente ( $p < 0,05$ ) (Figura 16).

Los resultados, obtenidos por Yen y Chen (1995), que evaluaron la actividad antioxidante con diferentes muestras de té, encontraron que el té pouchong, presentó mayor inhibición, seguido por el té verde, el té oolong y té negro con 66,1 %, 59,4 %, 54,6 % y 49 %, respectivamente.

Asimismo, la actividad antioxidante de extractos de Yacón realizado con diferentes solventes como el cloroformo, acetato de etilo, y acetona, inhibieron un 13,8 %; 17% y 20,5 % respectivamente (Yen *et al.*, 1999), del cual destacamos que los extractos acuosos de las muestras de cáscara de camu camu presentan mayor actividad para inhibir el radical DPPH.



Datos expresados en media  $\pm$  SD,  $n = 3$ ,  $p < 0,05$ . Evaluado luego de 10 minutos de reacción.

**Figura 16.** Porcentaje de inhibición del radical DPPH, frente a los extractos acuosos de la cáscara de seca camu camu.

#### a) Coeficiente de inhibición ( $IC_{50}$ )

De acuerdo con éste parámetro, bajos valores de  $IC_{50}$ , reflejan una alta actividad para inhibir radicales libres (De Ancos *et al.*, 2000), obteniéndose que el mayor porcentaje de inhibición presenta el extracto acuoso de la cáscara de camu camu pintón (Cuadro 11).

**Cuadro 11.** Coeficiente de Inhibición  $IC_{50}$ , de la cáscara de camu camu seca frente al radical DPPH.

Cáscara	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ ) <sup>1</sup>	AAE* ( $\mu\text{M}$ )
Maduro	114,2 $\pm$ 0,98 <sup>a</sup>	20,61 $\pm$ 0,30 <sup>a</sup>
Pintón	46,20 $\pm$ 0,10 <sup>b</sup>	21,24 $\pm$ 0,16 <sup>ab</sup>
Verde	117,8 $\pm$ 0,65 <sup>a</sup>	20,48 $\pm$ 0,49 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Datos expresados en media  $\pm$  SD, n = 3, p < 0,05. Evaluado luego de 10 minutos de reacción. AAE\*: Ácido Ascórbico Equivalente.  $\mu\text{M}$ : Micromolar.

Observándose diferencia (p < 0,05), entre los extractos acuosos de la cáscara de camu camu en diferentes estados de madurez, calculados mediante el porcentaje remanente del radical DPPH (Anexo - IV; Figuras 27, 28 y 29).

De las muestras en estudio, la muestra de cáscara del fruto pintón es 2,47 y 2,54 veces más fuerte que las muestras de cáscara del fruto maduro y verde.

Estos resultados tienen una correlación directa con el contenido de ácido ascórbico r = 0,999 y polifenoles r = 0,999 (Anexo - IV, Figura 30), de la cual deducimos que éstos componentes actúan directamente en la reacción de inhibición frente al radical DPPH.

Lebeau *et al.* (2000), calcularon valores de  $IC_{50}$  con estándares puros de BHT (12,56  $\mu\text{g/mL}$ ), Quercetina (0,43  $\mu\text{g/mL}$ ), Flavonas (46,84  $\mu\text{g/mL}$ ). Asimismo Ramos (2002), calculó valores de  $IC_{50}$  para el té verde y hierba luisa, obteniendo 32,43  $\mu\text{g/mL}$  y 1345,79  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente, observándose que la muestra de cáscara

de camu camu pintón, presenta el mejor coeficiente de inhibición, respecto a la muestra de hierba luisa, las flavonas y las cáscaras de camu camu maduro y verde, siendo superados por el Té, BHT y Quercetina.

#### b) Constante de velocidad ( $K_2$ )

El valor de  $K_2$  es un parámetro que diferencia a los compuestos de acuerdo a la reactividad intrínseca. La disminución de la lectura de absorbancia del DPPH<sup>o</sup> fue ajustado a la ecuación de la curva de calibración del DPPH.  $[Abs.] = 0,013[\mu M] R^2 = 0,999$ , obteniendo así la concentración real del DPPH reducido al final de la reacción, el valor de "b", fue calculado usando el modelo multiplicativo, propuesto por Porto *et al.* (2000), éstos valores fueron ploteados con las respectivas concentraciones de las muestras en estudio, donde la pendiente de la ecuación es el valor de  $K_2$ .

En el Cuadro 12 se observa que el valor de  $K_2$  de la cáscara pintona demostró tener mayor capacidad de reacción que los valores de  $K_2$  de la cáscara maduro y verde.

**Cuadro 12.** Constante de velocidad de reacción ( $K_2$ ) para el radical DPPH frente a los extractos acuosos de la cáscara seca de camu camu.

Cáscara	$K_2$ (mg/mL) <sup>-1</sup> Ln(s) <sup>-1</sup> *	R <sup>2</sup>
Maduro	1,32 ± 0,11 <sup>a</sup>	0,97
Pintón	4,04 ± 0,18 <sup>b</sup>	0,95
Verde	1,27 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,99

\* Datos expresados en media ± SD, n = 3, p < 0,05. Evaluado luego de 10 minutos de reacción.

Lebeau *et al.* (2000), y Espín *et al.* (2000), realizaron cálculos de actividad antioxidativa con estándares puros de flavonas ( $1,2 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ), Vitamina E ( $1,87(\text{mg}/\text{mL})^{-1}\text{s}^{-1}$ ), BHT ( $0,05(\text{mg}/\text{mL})^{-1}\text{s}^{-1}$ ), BHA ( $0,42(\text{mg}/\text{mL})^{-1}\text{s}^{-1}$ ), lo que significa, que las muestras en estudio poseen una buena actividad de secuestro de radicales.

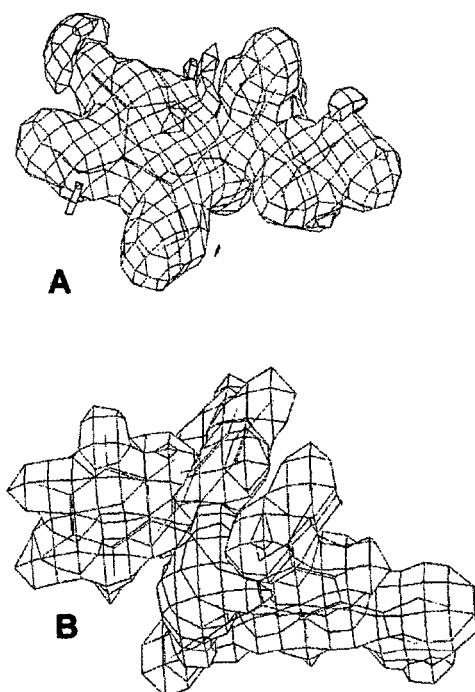
El valor de  $K_2$  obtenido por Ramos (2002), en la que evaluó la actividad antioxidativa del té verde y hierba luisa, fue de  $2,3 (\text{mg}/\text{mL})^{-1}\text{Ln}(\text{s})^{-1}$  y  $0,06 (\text{mg}/\text{mL})^{-1}\text{Ln}(\text{s})^{-1}$ . De acuerdo a nuestros resultados, el siguiente orden en función a la mayor velocidad de reacción es: cáscara de camu camu pintón > té > vitamina E > cáscara de camu camu maduro > cáscara de camu camu verde > flavonas > BHA > BHT. Estableciéndose que la cáscara de camu camu pintón, presenta la mayor velocidad de reacción ( $K_2 = 4,04 (\text{mg}/\text{mL})^{-1}\text{Ln}(\text{s})^{-1}$ ), debido a la mayor cantidad de ácido ascórbico presente (Figura 12).

### c) Poder antirradical (ARP)

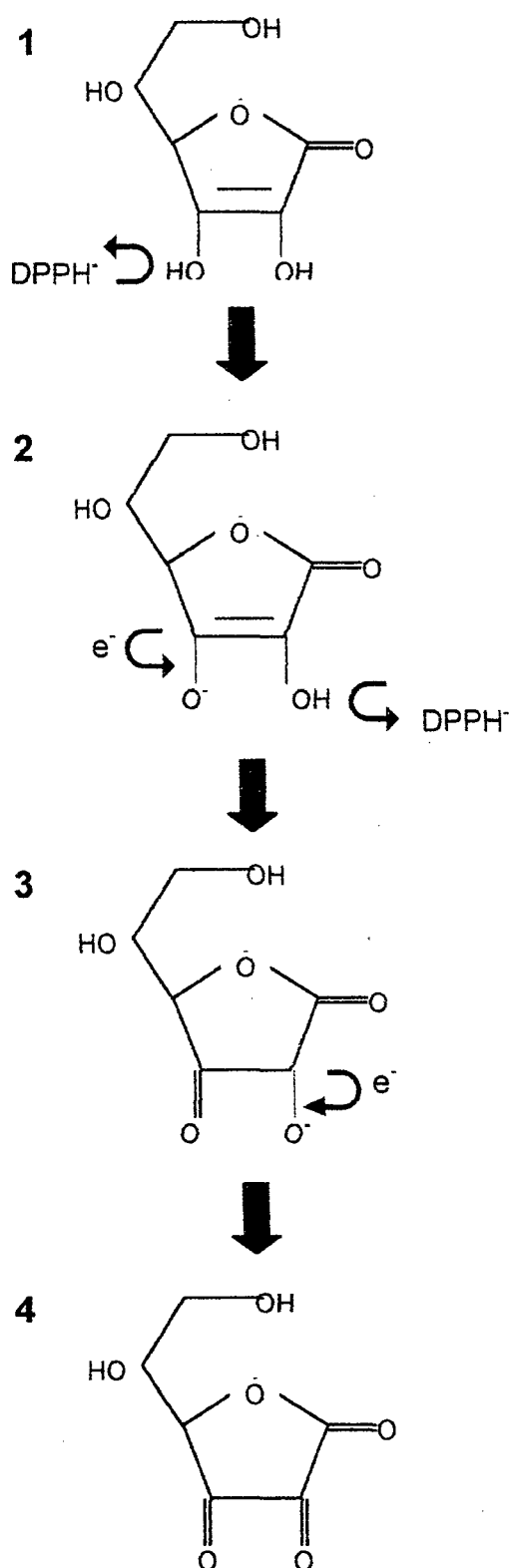
El valor de ARP, en parte explica la capacidad que tiene el antioxidante, para neutralizar un radical libre (donación de hidrógenos), teniendo una relación directa con la acción inhibidora (Brand Williams *et al.*, 1995). El valor del ARP para los extractos acuosos de cáscara de camu camu madura, pintón y verde fueron de  $0,88 \pm 1,01$ ;  $2,17 \pm 0,18$  y  $0,85 \pm 3,94$ . Brand Williams *et al.* (1995), calcularon el ARP con estándares puros de ácido rosmarínico, BHA, BHT,  $\alpha$ -tocoferol obteniendo valores de 6,9; 4,17

4,2 y 4,0 respectivamente. Para un mejor entendimiento del ARP, se simuló la reacción del ácido ascórbico frente al radical DPPH, usando el software Hyperchem. calculando las propiedades fisicoquímicas, de orbitales moleculares ( $E_{\text{HOMO}}$  y  $E_{\text{LUMO}}$ ), carga del electrón, potencial electrostático; determinando así la relación entre la estructura - actividad (Figura 17) (Van Acker *et al.*, 1996; Webb *et al.*, 2000; Vajragupta *et al.*, 2000), que correlacionan con la Actividad Biológica (Webb *et al.*, 2000).

En la Figura 18, se observa el mecanismo de reacción del ácido ascórbico, por parte del radical DPPH.



**Figura 17.** Potencial electrostático 3D (A) ácido ascórbico, (B) radical DPPH, optimizado mediante Mecánica Molecular. Color verde (menor capacidad oxidante), color fucsia (con menor capacidad reductora).



En la primera etapa, el ácido ascórbico, cede un hidrógeno, debido a la diferencia en la banda de energía entre el radical DPPH y el ácido ascórbico (5,19 eV) (Figura 19), en la cual, el contorno de color verde, representa la región positiva, con menor capacidad oxidante, mientras que la región fucsia, con menor capacidad reductora, representa la región desfavorable en la zona estérica.

Produciéndose una cesión de transferencia de electrones del doble enlace, hacia el oxígeno, que quedo oxidado, repitiendo la misma acción en el siguiente átomo de oxígeno, que sufrió la perdida de la molécula de hidrógeno, hasta establecerse el equilibrio de energía.

De acuerdo a ésta reacción, el ácido ascórbico cede dos hidrógenos, explicando así su eficiencia como un excelente antioxidante.

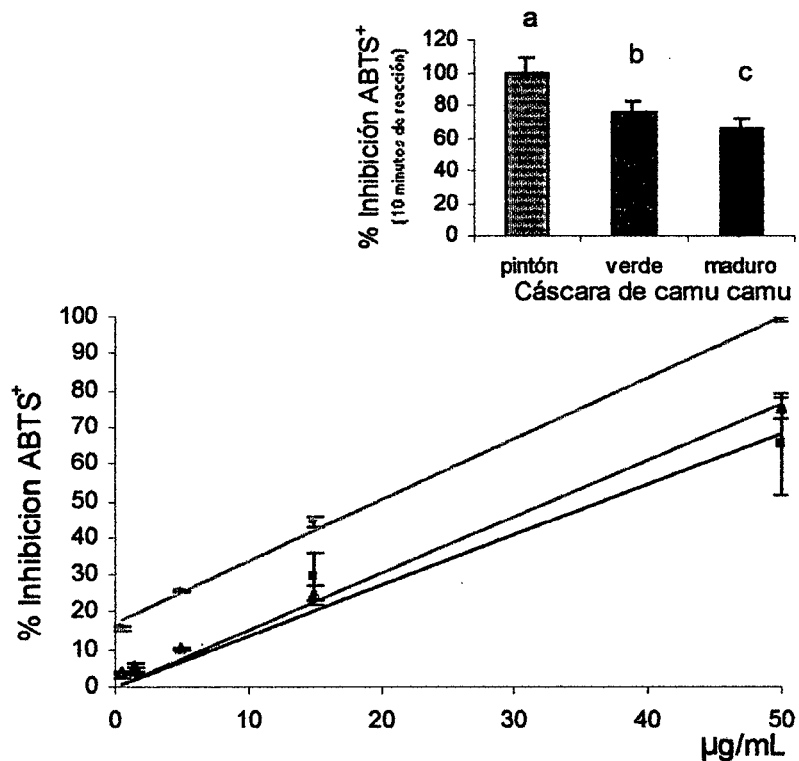
**Figura 18.** Mecanismo de reacción del ácido ascórbico frente al radical DPPH. Evaluado mediante simulación con Hyperchem.



## 2. Cation 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazoline - 6 ácido sulfónico) (ABTS<sup>+</sup>)

Este radical, es utilizado ampliamente para medir la actividad antioxidante en el plasma sanguíneo, y fluidos biológicos (Re *et al.*, 1998; Psotová *et al.*, 2001), así como para los carotenoides y compuestos fenólicos (Pellegrini *et al.*, 1999), adicionalmente se puede medir el potencial antioxidante de muestras de drogas (Calbiochem, 2000).

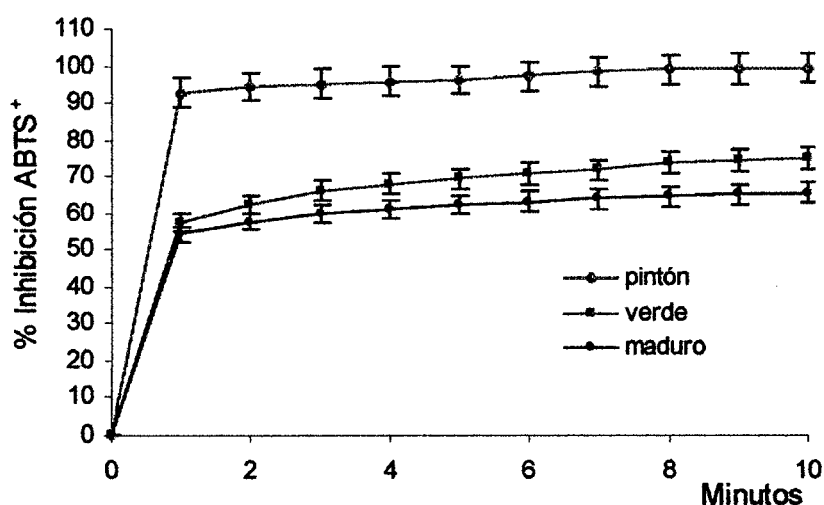
La actividad antioxidante fue evaluada a 734 nm, con cinco diferentes concentraciones, comprendiendo un rango optimo de inhibición. El porcentaje de inhibición fue calculado luego de diez minutos de reacción, para cada extracto (Figura 20).



**Figura 20.** Porcentaje de inhibición de los extractos acuosos de la cáscara de camu camu seco, frente al cation ABTS<sup>+</sup>.

De los resultados mostrados en la Figura 20, se aprecia un incremento proporcional entre el porcentaje de inhibición del ABTS<sup>+</sup> y la concentración de los extractos obtenidos de la cáscara de camu camu en los diversos estados de madurez, obteniéndose un porcentaje de inhibición de  $99,35 \pm 0,46 \%$ ;  $75,23 \pm 13,81 \%$  y  $67,39 \pm 2,99 \%$ ; ( $p < 0,05$ ), para las muestras de cáscara de fruto pintón, verde y maduro respectivamente.

En la reacción de reducción del ABTS<sup>+</sup> frente a los extractos acuosos en estudio, monitoreado a 734 nm, se observa que el mayor porcentaje de inhibición está comprendido entre 0 - 2 minutos (Figura 21). La reacción de la actividad antioxidante del ácido ascórbico y otros compuestos fenólicos frente al ABTS<sup>+</sup> presenta una cinética de reacción bifásica (Kim *et al.*, 2002).



**Figura 21.** Reacción de inhibición del cation ABTS<sup>+</sup>, frente a los extractos acuosos de la cáscara seca de camu camu (50 µg/mL). Evaluado luego de diez minutos de reacción.

a) **Coefficiente de inhibición (IC<sub>50</sub>)**

El cálculo del correspondiente valor de IC<sub>50</sub>, fue realizado mediante el plotéo de los porcentajes de inhibición, respecto a sus respectivas concentraciones (Anexo - V; Figuras 32, 33 y 34).

En el Cuadro 13, se muestra el coeficiente de inhibición IC<sub>50</sub>, de la cáscara seco de camu camu frente al catión ABTS<sup>+</sup>.

**Cuadro 13.** Coeficiente de inhibición IC<sub>50</sub>, de la cáscara seco de camu camu frente al catión ABTS<sup>+</sup>.

Cáscara	IC <sub>50</sub> (µg/mL) <sup>1</sup>	AAE* (µM)
Maduro	33,76 ± 5,47 <sup>b</sup>	11,63 ± 0,45 <sup>b</sup>
Pintón	20,25 ± 0,19 <sup>a</sup>	13,22 ± 0,26 <sup>a</sup>
Verde	32,54 ± 1,34 <sup>b</sup>	12,07 ± 0,18 <sup>b</sup>

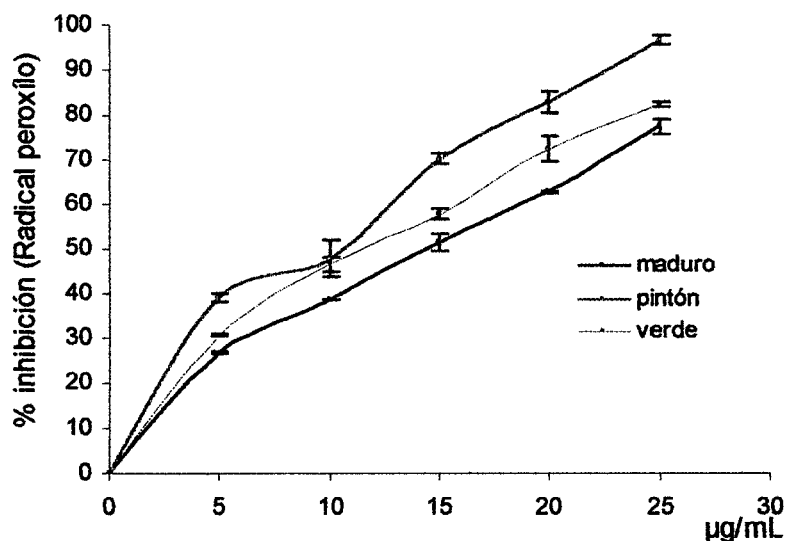
<sup>1</sup>Datos expresados en media ± SD, n=3, p < 0,05. Evaluado luego de 10 minutos de reacción. AAE\*: Ácido Ascórbico Equivalente. µM: Micromolar.

El valor de IC<sub>50</sub> para la cáscara del fruto maduro, pintón y verde fue de 33,76; 20,25 y 32,54 µg/mL respectivamente, éstos valores de IC<sub>50</sub>, comparados con los obtenidos por Sandoval *et al.* (2002), en la que evaluaron la actividad antioxidante con muestras de uña de gato (*Uncaria tomentosa* y *uncaria guianensis*), y en los que obtuvieron valores de 7,7 µg/mL y 4,8 µg/mL, evidencian ser más eficientes que las muestras de camu camu, debido a que los extractos de uña de gato, antes de los experimentos fueron liofilizados, así mismo éste recurso presenta buenas propiedades antiinflamatorias.

El coeficiente de correlación frente al ácido ascórbico y polifenoles totales fue de  $r = 0,994$  y  $r = 0,993$  (Anexo - V; Figura 35), destacando una correlación positiva, para el extracto acuoso de la cáscara de camu camu pintón, reflejado en el contenido de ácido ascórbico y polifenoles totales (Figura 12, Cuadro 10), éstos resultados demuestran que en la cáscara del fruto maduro y verde, el ácido ascórbico y lo polifenoles no son los únicos responsables de la actividad antioxidante, suponiendo la acción de terceros componentes (Prior *et al.*, 1998; Kahkomen *et al.*, 1999; Zheng y Wang, 2001).

### 3. Radical peroxilo

En la Figura 22, se muestran las reacciones del radical peroxilo, frente al extracto acuoso de la cáscara seco de camu camu:



**Figura 22.** Inhibición del radical peroxilo frente a los extractos acuosos de la cáscara de camu camu. Evaluado luego de diez minutos de reacción.

En el presente experimento, la reacción de inhibición del radical peroxilo, por las muestras de cáscara de camu camu (5 – 25 µg/mL), presentó una buena eficiencia, que fue determinado por la adición de los extractos acuosos (100 µL), con 900 µL de radical peroxilo. La disminución de la absorbancia fue medida continuamente cada 30 segundos por un tiempo de 10 minutos. Obteniéndose el siguiente orden en cuanto a porcentaje de inhibición: Extracto acuoso de cáscara de fruto pintón > extracto acuoso cáscara de fruto verde > extracto acuoso cáscara de fruto maduro ( $p < 0,05$ ), con  $96,70 \pm 1,07$  %,  $82,39 \pm 0,30$  % y  $77,45 \pm 1,71$  respectivamente.

#### a. Coeficiente de inhibición ( $IC_{50}$ )

**Cuadro 14.** Coeficiente de Inhibición  $IC_{50}$ , de la cáscara seco de camu camu frente al radical peroxilo.

Cáscara	$IC_{50}$ (µg/mL) <sup>1</sup>	AAE* (µM)
Maduro	$14,39 \pm 0,08^a$	$10,53 \pm 0,42^a$
Pintón	$8,30 \pm 0,85^b$	$11,09 \pm 0,21^a$
Verde	$12,21 \pm 0,35^c$	$10,74 \pm 0,14^a$

<sup>1</sup>Datos expresados en media  $\pm$  SD,  $n = 3$ ,  $p < 0,05$ . Evaluado luego de 10 minutos de reacción. AAE\*: Ácido Ascórbico Equivalente. µM: Micromolar

La formación del radical peroxilo es un paso importante en la peroxidación de lípidos (Sandoval *et al.*, 2001). Los valores de  $IC_{50}$  de los extractos acuosos para el radical peroxilo fueron de 8,30; 12,21 y 14,39 µg/mL ( $p < 0,05$ ), para las muestras de cáscara de frutos pintón, verde y maduro respectivamente. Sandoval *et al.* (2001), evaluaron la actividad antioxidante de la maca (*Lepidium*

*meyenii*), frente al radical peroxílo obteniendo un valor de  $IC_{50}$  de 430  $\mu\text{g/mL}$  destacándose una mayor eficiencia de las muestras de cáscara de camu camu, indicando que las muestras en experimento contribuyen a la disminución de la formación de radicales peroxílo (Dean *et al.*, 1993; Sandoval *et al.*, 2001), presentando una correlación lineal con el contenido de ácido ascórbico ( $r = 0,926$ ) y polifenoles ( $r = 0,923$ ) (Anexo - VI; Figura 40); destacando que en las muestras de cáscara de fruto maduro y verde (Figura 12, Cuadro 10), la acción de inhibición, está influenciado por otros componentes presentes en la muestra. (Prior *et al.*, 1998; Kahkomen *et al.*, 1999; Zheng y Wang, 2001).

## V. CONCLUSIONES

- La cáscara de camu camu en estado fresco que presentó el mayor contenido en antocianinas y ácido ascórbico fue la madura con 46,42 mg Cianidina-3-glucosido /L y 21,95 mg Ac. Ascórbico/g muestra respectivamente. Al estado seco, no se detectó en la cáscara la presencia de antocianinas; el mayor contenido en ácido ascórbico y polifenoles totales lo presentó en la cáscara del fruto pintón con 53,49 mg Ac. Ascórbico /g muestra y 7,70 mg Ac. Gálico/g muestra, respectivamente.
- La mayor actividad antioxidativa lo presentó el extracto acuoso de la cáscara del fruto pintón, con  $IC_{50} = 46,20 \mu\text{g/mL}$ ;  $20,25 \mu\text{g/mL}$  y  $8,30 \mu\text{g/mL}$  frente a los radicales DPPH;  $ABTS^+$  y Peroxílo respectivamente.
- La correlación de la actividad antioxidante, con el contenido de ácido ascórbico y polifenoles totales, respecto al radical DPPH fue de  $r = 0,999$  y  $r = 0,999$ ; para el catión  $ABTS^+$   $r = 0,994$  y  $r = 0,993$ , y para el radical Peroxílo  $r = 0,926$  y  $r = 0,923$ , respectivamente; disminuyendo el coeficiente de correlación del ácido ascórbico y polifenoles totales para el catión  $ABTS^+$  y radical peroxílo, suponiendo que la inhibición estaría influenciada por la acción de otros componentes no evaluados en éste experimento.

## VI. RECOMENDACIONES

- Evaluar la actividad antioxidante de la cáscara de camu camu, usando otros tipos de radicales, como son: El radical Hidroxilo ( $\cdot\text{OH}$ ); Peroxinitrito, Capacidad de Absorbancia de Radicales Oxígeno (ORAC), Poder Antioxidante Reductor de Hierro (FRAP).
- Cuantificar el contenido de Proantocianidina, ya que en pruebas preliminares, demostró tener presencia.
- Realizar pruebas en cultivos celulares, debido a que la muestra en estudio demostró tener buena eficiencia para neutralizar los radicales peróxido, siendo éstos responsables de daño celular.
- Evaluar en almacenamiento la actividad antioxidante de la cáscara de camu camu sometido a diferentes temperaturas.
- Realizar estudios de secado en la cáscara de camu camu.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

- A.O.A.C. 1995.** Official Methods of Analysis. Vitamins and Other Nutrients. 15<sup>o</sup> Ed. Gaithersburg Md. USA.
- AKHMADIEVA, A.; ZAICHKINA, S.; RUZIEVA, R.; GANASS, E. 1993.** The Protective Actino of a Natural Preparation of Anthocyan (pelargonidin-3,5-diglucoside). Radiobiologia. 221: 1256 – 1263.
- BRADSHAW, M.; PRENZLER, P.; SCOLLARY, G. 2001.** Ascorbic Acid-Induced Browning of (+)-Catechin In a Model Wine System. J. Agric. Food Chem. 49: 934 - 939.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.; BERSET, C. 1995.** Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. Lebensm. Wiss. Technol. 28: 25 -30.
- BECCI, P.; HESS, F.; GALIO, M.; JOHNSON, W.; BABISH, J. 1983.** Subchronic Feeding Study of Color Extract in Beagle Dogs. J. Food Chem. Toxicol. 21(1): 75 - 77.
- BURATTI, S.; PELLEGRINI, N.; BRENNNA, O.; MANNINO, S. 2001.** Rapid Electrochemical Method for the Evaluation of the Antioxidant Power of Some Lipophilic Food Extracts. J. Agric. Food Chem. 49: 5136 - 5141.
- CALBIOCHEM. 2000.** Free Radical Marker Assay Kits. Biochemicals. General Catalog. [www.calbiochem.com](http://www.calbiochem.com)
- CALZADA, B. 1976.** Métodos Estadísticos. Lima s.n. Tercera Edición. 640 p.
- CARPENTER, J.; WANG, Y.; POWERS, J. 1967.** Effect of Anthocyanin Pigments on Certain Enzymes. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 124(3): 702 - 706.

- COLANTOUNI, A.; BERTUGLIA, S.; MAGISTRETTI, M.; DONATO, L. 1991.**  
Effects of *Vaccinium myrtillus* Anthocyanosides on Arterial Vasomotion.  
*Arzneim-Forsch.* 41(9): 905 - 909.
- CONSTANTINO, L.; RASTELLI, G.; ALBASSINI, A. 1995.** Anthocyanidines as  
Inhibitors of Xanthine Oxidase. *Pharmazie.* 50: 573 - 574.
- DAO, L.; TAKEOKA, G.; EDWARDS, R.; BERRIOS, J. 1998.** Improved  
Method for the Stabilization of Anthocyanidins. *J. Agric. Food Chem.* 46:  
3564 - 3569.
- DE ANCOS, B.; GONZALES, E.; CANO, P. 2000.** Ellagic Acid, Vitamin C, and  
Total Phenolic Contents and Radical Scavenging Capacity Affected by  
Freezing and Frozen Storage in Raspberry Fruit. *J. Agric. Food Chem.*  
48: 4565 -4570.
- DEAN, R.; GIESEG, S.; DAVIES. M. 1993.** Reactive Species and their  
Accumulation on Radical Damaged Proteins. *Trends Biochem. Sci.* 18:  
437 – 441.
- DREOSTI, I. 2000.** Antioxidant Polyphenols in Tea, Cocoa, and Wine. *Nutrition.*  
16 (7/8): 692 - 694.
- ELEJALDE, G. 2001.** Oxidación entre la Vida y la Enfermedad. *Anales de  
Medicina Interna. Madrid-España.* 18 (1): 1 - 4.
- ESPIN, J.; SOLER-RIVAS. C.; WICHERS, H.; GARCIA-VIGUERA, C. 2000.**  
Anthocyanin Based Colorants: A New Source of Antirradical Activity for  
Foodstuff. *J. Agric. Food Chem.* 48: 1588 – 1592.
- FERNÁNDEZ, F. 1995.** Extracción y Repurificación de Antocianinas de maíz  
morado (*Zea Mays*). Trabajo Profesional para Optar el Título de

- INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS. Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima. Lima – Perú.
- FERRELL, J.; CHANG, S.; LOEW, G.; KING, R.; MANSOUR, J.; MANSOUR, M. 1979.** Structure/activity Studies if Flavonoids as Inhibitor of Cyclic AMP Phosphodiesterase and Relationship to Quantum Chemical Indices. *Mol. Pharmacol.* 16: 556 - 568.
- FRIEDMAN, M. 1997.** Chemistry, Biochemistry, and Dietary Role of Potato Polyphenols. *J. Agric. Food Chem.* 45: 1523 - 1540.
- GARCÍA, B.; GARCÍA, G.; ROJO, D.; SÁNCHEZ, G. 2001.** Plantas con Propiedades Antioxidantes. Instituto Superior de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria Ceirón". *Revista Cubana de Investigación Biomédica.* 20 (3): 231 - 235.
- GEANKOPLIS, CH. 1982.** Procesos de Transporte y Operaciones Unitarias. Traducido del Ingles por Gómez Eroles Antonio, Ing. Químico Ph.D. Editorial Continental. Impreso en México. 757p.
- GONZÁLES-TORRES, M.; BETANCOURT-RULE, M.; ORTIZ-MUÑIZ, R. 2000.** Daño Oxidativo y Antioxidantes. *Bioquímica.* Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa. México. 25 (1): 3 - 9.
- GIBB, C.; GLOVER, V.; SANDLER, M. 1987.** In Vitro Inhibition of Phenol-Sulphotransferase by Food and Drink Constituents. *Biochem Pharmacol.* 36(14): 2325 – 2330.
- HALLIWELL, B.; MARCIA, M.; CHIRICO, S.; AUROMA-OKEZIE, L. 1995.** Free Radicals and Antioxidants in Food and in Vivo; GAT they Do and

How they Work. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 35 (1/29): 7 - 20.

**HERNÁNDEZ, M.; PRIETO, G. 1999.** Plantas que contienen polifenóles. Antioxidantes Dentro del Estilo de Vida. Centro de Investigaciones Biomédicas. *Revista Cubana de Investigación Biomédica*. 18: 1 – 4.

**HU, CH.; KITTS, D. 2000.** Studies on the Antioxidant Activity of *Echinacea* Root Extract. *J. Agric. Food Chem.* 43: 27 – 32.

**HUNG, CH-Y.; YEN, G-CH. 2002.** Antioxidant Activity of Phenolic Compounds Isolated from *Mesona Procumbens* Hemsl. *J. Agric. Food Chem.* P: A -E.

**JHONSON, L. 1995.** Food Technology of the Antioxidant Nutrients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 35 (1/2): 149 - 159.

**KADAR, A.; ROBERT, L.; MISKULIN, M.; TIXER, J.; BRECHEMIER, D.; ROBERT, A. 1979.** Influence of Anthocyanoside Treatment on the Cholesterol-inducid Atherosclerosis in the Rabbit. *Paroi Arterielle*. 5(4): 187 – 205.

**KAHKOMEN, M.; HOPIA, A.; VUORELA, H.; RAUHA, J.; PIHLAJA, K.; KUJALA, T.; HEINONEN, M. 1999.** Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *J. Agric. Food Chem.* 47: 3954 – 3962.

**KAMEI, H.; KOJIMA, T.; HASEGAWA, M.; KOIDE, T.; UMEDA, T.; YUKAWA, T.; TERABE, K. 1995.** Supression of Tumor Cell growth by Anthocyanins in Vitro. *Cancer Invest.* 13(6): 590 – 594.

- KARAIVANOVA, M.; DRENSKA, D.; OUCHAROV, R. 1990.** A Modification of the Toxic Affects of Platinum Complexes with Antocyanins. *Eksp. Med. Morfol.* 29(2): 19 – 24.
- KIKOKU, Y.; FUKARA, K.; SAITO, I.; OOTA, H. 1995.** Identification and High Performance Chromatographic Determination of Strawberry Anthocyanin Pigments. *J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol.* 42(2): 118 – 123.
- KIM, D.; LEE, K.; LEE, H.; LEE CH. 2002.** Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Phenolic Phytochemicals. *J. Agric. Food Chem.* P: A – E.
- KO, F.; CHENG, Z.; LIN, C.; TENG, C. 1998.** Scavenger and Antioxidant Properties of Prenylflavones Isolated from *Artocarpus heterophyllus*. *Free Radical Biol. Med.* 25: 160 – 168.
- KUHNAU, J. 1976.** The Flavonoids. A class of Semi-essential Food Components: Their Role in Human Nutrition. *World Rev. Nutr. Diet.* 24: 117 – 191.
- LARRAURI, A.; SANCHEZ-MORENO, C.; SAURA-CALIXTO, F. 1998.** Effect of Temperature on the Free Radical Scavenging Capacity of Extract from Red and white Grape Pomace peels. *J. Agric. Food Chem.* 46: 2694 – 2697.
- LEBEAU, J.; FURMAN, C.; BERNIER, J.; DURIEZ, P.; TEISSIER, E.; COTELLE, N. 2000.** Antioxidant Properties of Di-tert-Butylhydroxylated Flavonoids. *Free Radical Biology & Medicine.* 29(9): 900 - 912.

- LEE, H.; CHEN, CH. 1998.** Rates of Vitamin C Loss and Discoloration in Clear Orange Juice Concentrate During Storage at Temperature of 4-24 °C. *J. Agric. Food Chem.* 46: 4723 - 4727.
- LEONARDI, M. 1993.** Treatment of Fibrocystic Disease of the Breast with Myrtillus Anthocyanins. Our Experience. *Minerva Ginecol.* 45: 617 – 621.
- LIETTI, A.; CRISTONI, A.; PICCI, M. 1976.** Studies on Vaccinium myrtillus Anthocyanosides. Vasoprotective and Antiinflammatory Activity. *Arzneim-Forsch.* 26(5): 829 - 832.
- MARTÍNEZ – VALVERDE, I.; PERIAGO, M.; ROS, G. 2000.** Significado Nutricional de los Compuestos Fenólicos de la Dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición. Órgano Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición.* 50 (1): 5 - 15.
- MAZZA, G.; MINIATI, E. 1993.** Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains. CRC Pres Inc. Boca Raton. FL. P: 36.
- MINKOVA, M.; DRENSKA, D.; PANTEV, T.; OVCHAROV, R. 1990.** Antiradiation Properties of Alpha Tocopherol, Anthocyanins, and Pyracetam Administered Combined as a Pretreatment Course. *Acta Physiol. Pharmacol. Bulg.* 16(4): 31 – 36.
- MITCHEVA, M. ASTROUG, H.; DRENSKA, D.; POPOV, A.; KASSAROVA, M. 1993.** Biochemical and Morphological Studies on Anthocyanins and Vitamin E on Carbon Tetrachloride Induced Liver Injury. *Cell. Mol. Biol.* 39: 443 – 448.
- MUÑOZ, L. 1990.** Alimentación y Nutrición. Edigraria. UNALM (Universidad Nacional Agraria la Molina). Impreso en Perú. P: 213 - 263.

- OZKAN, M.; YEMENICIOGLU, A.; ASEFI, N.; CEMEROGLU, B. 2002.**  
Degradation Kinetics of Anthocyanins from Sour Cherry, Pomegranate, and Strawberry Juices by Hydrogen Peroxide. *J. Food Sci.* 67: 525–529.
- PELLIGRINI, N.; RE, R.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. 1999.** Screening of Dietary Carotenoids and Carotenoid-Rich Fruit Extracts of Antioxidant Activities Applying 2,2'-Azinobis (3-Ethylenebenzothiazoline-6-sulfonic acid) Radical Cation Decolorization Assay. *Methods in Enzymology.* 299: 379 - 391.
- POLITZER, M. 1977.** Experience in the Medical Treatment of Progressive Miopía. *Klin. Monatsbl. Augenheilkd.* 171(4): 616 – 619.
- PORTO DA, C.; CALLIGARIS, S.; CELOTTI, E.; NICOLI, M. 2000.** Antiradical Properties of Commercial Cognacs Assessed by DPPH° Test. *J. Agric. Food Chem.* 48: 4241 - 4245.
- PRICE, L.; BUTLER, G. 1977.** Rapid Visual Estimation Spectrophometric Determination of Tannin Content of Sorghum Grain. *J. Agric. Food Chem.* 25(6): 1268 –1273.
- PRIOR, R.; CAO, G.; MARTIN, A.; SOFIC, E.; MCEWEN, J.; O'BRIEN, CH.; LISCHNER, N.; EHLENFELDT, M.; KALT, W.; KREWER, G.; MAINLAND, M. 1998.** Antioxidant Capacity As Influenced by Total Phenolic and Anthocyanin Content, Maturity, and Variety of *Vaccinium* Species. *J. Agric. Food Chem.* 46: 2682 - 2693.
- PSOTOVÁ, J.; ZAHALKOVÁ, J.; HRBAC, J.; SIMANEK, V.; BARKET, J. 2001.** Determination of total Antioxidant Capacity in Plasma by Cyclic Voltammetry. Two Case reports. *Biomed Papers.* 145(2): 81 – 83.

- RAMOS, F. 2001.** Diseño y Evaluación de la Capacidad Antioxidativa in Vitro de una Bebida en base a Té verde (*Camellia sinensis*) y hierba Luisa (*Cymbogon citratus Staph*). Tesis para Optar el Título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Tingo María – Perú.
- RAPISARDA, P.; FANELLA, F.; MACARONE, E. 2000.** Reliability of Analytical Methods for Determining Anthocyanins in Blood Orange Juice. *J. Agric. Food Chem.* 48: 2249 - 2252.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. 1998.** Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology and Medicine.* 26(9/10): 1231 – 1237.
- RIVA, R.; GONZALES, R. 1996.** Tecnología del Cultivo de Camu camu (*Myrciaria dubia* McVaugh) en la Amazonía Peruana. Ministerio de Agricultura. Perú. 40 p.
- RODRÍGUEZ, D.; J. 1991.** Métodos de Investigación Pecuaria. Editorial Trillas. Impreso en México. Primera Edición. 205 p.
- RODRÍGUEZ, P.; MENÉNDEZ, L.; TRUJILLO, L. 2001.** Radicales Libres en la Biomedicina y Estrés Oxidativo. Instituto Superior de Medicina Militar “Dr. Luis Díaz Soto”. *Revista Cubana Medica Militar.* 30 (1): 36 - 44.
- SAIJA, A.; PRINCI, P.; D’AMICO, N.; DE PASQUALE, R.; COSTA, G. 1990.** Effects of *Vaccinium myrtillus* Anthocyanins on Triiodothyronine Transport in the Rat. *Pharmacol. Res.* 22(Suppl. 3): 59 – 60.
- SANDOVAL, M.; OKUHAMA, N.; ANGELES, F.; MELCHOR, V.; CONDEZO, L.; LAO, J.; MILLER, M. 2001.** Antioxidant Activity of the Cruciferous

- Vegetable Maca (*Lepidium meyenii*). Publicación Aceptada. Food Chemistry. P: 1 – 23.
- SANDOVAL, M.; OKUHAMA, N.; ZHANG, X.; CONDEZO, L.; LAO, J.; ANGELES, F.; MUSAH, R.; BOBROWSKI, P.; MILLER, M. 2002.** Anti-inflammatory and Antioxidant Activities of Cat's Claw (*Uncaria tomentosa* and *uncaria guianensis*) are Independent of their Alkaloid Content. Phytomedicine. 9: 1 – 13.
- SCHARRER, A.; OBER, M. 1981.** Anthocyanosides in the Treatment of Retinopathies. Klin. Monatsbl Augenheikd. 178(5): 386 – 389.
- SERRA, E.; TRIBO, M. 1991.** Antioxidantes. Nutrición Clínica. Escuela de Nutrición. Universidad de Granada Actualidad Dermatológica. 21 – 26.
- SING DE UGAZ, O. 1997.** Colorantes Naturales. Pontificia Universidad Católica del Perú. Impreso en Perú. 95 - 106.
- SING; R.; CHIDAMBARA, K.; JAYAPRAKASHA, G. 2001.** Studies on the Antioxidant Activity of Pomegranate (*Punica Granatum*) Peel and Seeds Extracts Using in Vitro Models. J. Agric. Food Chem. A - F.
- SINGH, R.; HELDMAN, D. 1998.** Introducción a la Ingeniería de los Alimentos. Traducido del Ingles por los Doctores en Ciencias Químicas García Labiano Francisco y García Bacaicoca Pedro. Editorial Acribia S.A. Impreso en España. 544.
- SOFTWARE: STATISTICA** for windows. Release 5.0 A. Copyright © statsoft. Inc. 1984 – 1995.
- SOFTWARE: HYPERCHEM™.** Release 6.01 for windows. Molecular Modeling System. Copyright © 2000.

- SLOAN, E. 2002.** The Natural and Organic Foods Marketplace. *J. Food Tech.* 56(1): 28.
- TIMBERLAKE, C.; HENRY, B. 1988.** Anthocyanins as Natural Food Colorants. *Prog. Clin. Biol. Res.* 280: 107 – 121.
- THOMAS, M. 2000.** The Role of Free Radicals and Antioxidants. *Nutrition.* 16 (7/8): 716 – 718.
- TRIBO, M. 1994.** Principios Activos de Antienvjecimiento por Vía Oral y Local. Grupo Hospitalario de la Pitie-Salpatriere. Unidad de Dermatología. Paris. *Actualidad Dermatológica.* 329 - 334.
- UNIDAD DE DESARROLLO DE LA AMAZONÍA (UDA). 2000.** programa Nacional de Camu Camu 2000-2002. Presidencia de la Republica. Ministerio de Agricultura-Instituto Nacional de Recursos Naturales. 5 - 12.
- VARGAS, J. 2000.** Obtención del Extracto de Uña de Gato (*Uncaria tomentosa*) y su Aplicación a una Bebida Carbonatada. Trabajo Profesional para Optar el Título de INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María – Perú.
- VAJRAGUPTA, O.; BOONCHOONG, P.; WONGKRAJANG, Y. 2000.** Comparative Quantitative Structure-Activity Study of Radical Scavengers. *Biorganic and Medical Chemistry.* 8: 2617 – 2628.
- VAN ACKER, S.; GROOT, M.; VAN DEN BERG, D.; TROMP, M.; DONNE-OP, G.; VAN DER VIJGH, W.; BAST, A. 1996.** A Quantum Chemical

- Explanation of the Antioxidant Activity of Flavonoids. *Chem. Res. Toxicol.* 9: 1305 – 1312.
- VILLACHICA, L. 1996.** El Cultivo del Camu Camu (*Myrciaria Dubia* H.B.K. Mc Vaugh) En la Amazonía Peruana. Tratado de Cooperación Amazónica. Secretaria Pro-Tempore. Lima - Perú. 95 p .
- WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R. 1997.** Oxygen Radical Absorbing Capacity of Anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.* 45: 304 – 309.
- WEBB, R.; DURST, G.; PERNICH, D.; HALL, CH. 2000.** Interaction of Cyclohexanediones with Acetyl Coenzyme-A Carboxylase and an Artificial Target-Site Antibody Mimic: A Comparative Molecular Field Analysis. *J. Agric. Food Chem.* 48: 2506 – 2511.
- WHEELER, O.; CARPENTER, J.; POWERS, J.; HAMDY, M. 1967.** Inhibition of Enzymes by the Anthocyanin malvidin-3-monoglucoside. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 125(2): 651 – 657.
- WHEELER, G.; JONES, M.; SMIRNOFF, N. 1998.** The Biosynthetic Pathway of Vitamin C in Higher Plants. *Letters to Nature.* 393: 365 - 368.
- WILLS, R.; LEE, T.; HALL, E.; GRAHAM, D. 1984.** Fisiología y Manipulación de Frutas y Hortalizas Post-Recolección. Traducido del Ingles por Dr. Justino Burgos Gonzáles. Edit. Acribia. España. p. 18 – 25.
- YAMAGUCHI, T.; TAKAMURA, H.; MATOBA, T.; TERAU, J. 1998.** HPLC Method for Evaluation of the Free Radical-Scavenging Activity of Foods by Using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62: 1201 – 1204.

- YAN, X.; SUZUKI, M.; OHNISHI-KAMEYAMA, M.; SADA, Y.; NAKANISHI, T.; NAGATA, T. 1999.** Extraction and Identification of Antioxidants in the Roots of Yacón (*Smallanthus sonchifolius*). *J. Agric. Food Chem.* 47: 4711 – 4713.
- YEN, G.; CHEN, H. 1995.** Antioxidant Activity of Various Tea Extracts in Relation to Their Antimutagenicity. *J. Agric Food Chem.* 43: 27 – 32.
- ZAPATA, S.; DUFOUR, J. 1993.** Camu Camu (*Myrciaria dubia McVaugh*) Chemical Composition of Fruit. *J. Agric. Food Chem.* 61: 349 – 351.
- ZHENG, W.; WANG, S. 2001.** Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Select Herbs. *J. Agric. Food Chem.* 49: 5165 – 5170.

## VIII. ANEXOS

## Anexo I

Comparación de °Brix, % de Acidez y pH en muestras de Camu Camu.

Camu camu	°Brix		% Acidez		pH	
Maduro	7.5*	6.8**	3.11* ± 0.04	3.08**	2.69*	2.56**
Pintón	5.5*	5.5**	2.89* ± 0.02	3.08**	2.67*	2.53**
Verde	4.5*	5.6**	3.43* ± 0.02	3.55**	2.57*	2.44**

\* : Datos obtenidos experimentalmente, n = 3 ± SD.

\*\* : Datos obtenidos por Zapata y Dufour (1993).

## Anexo II

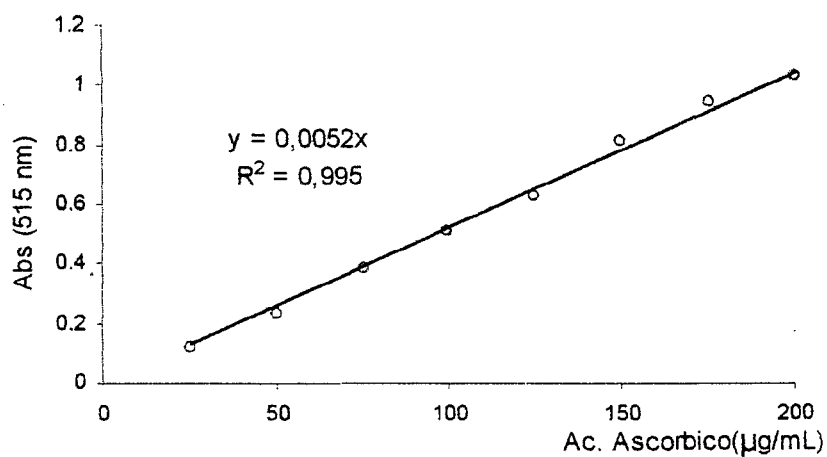


Figura 23. Curva patrón para la cuantificación de ácido ascórbico.

### Anexo III

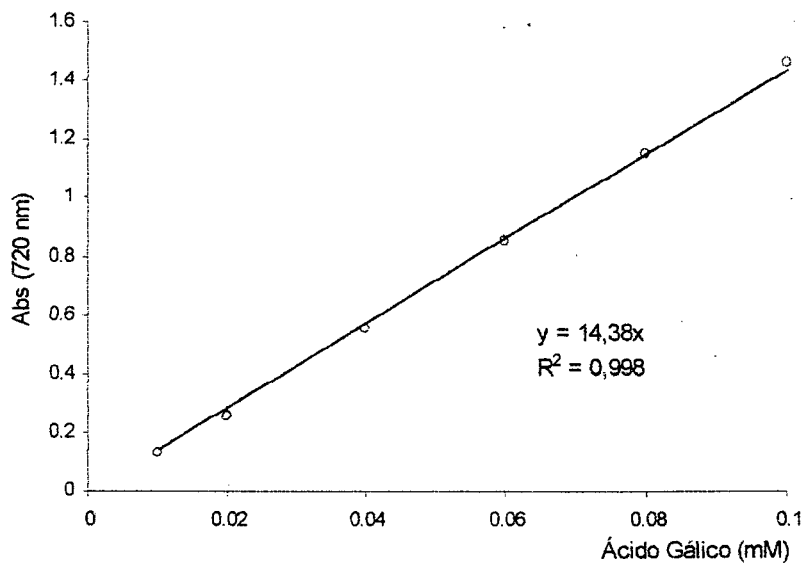


Figura 24. Curva patrón de polifenoles totales.

### Anexo IV

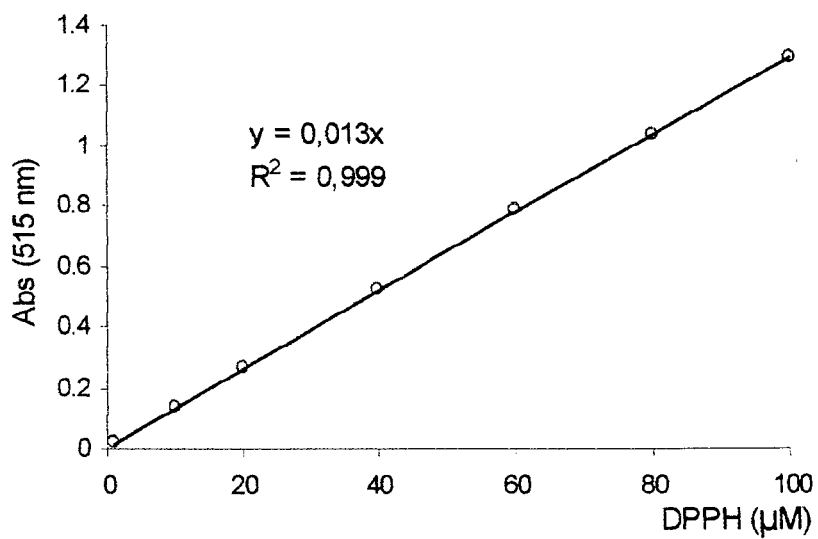
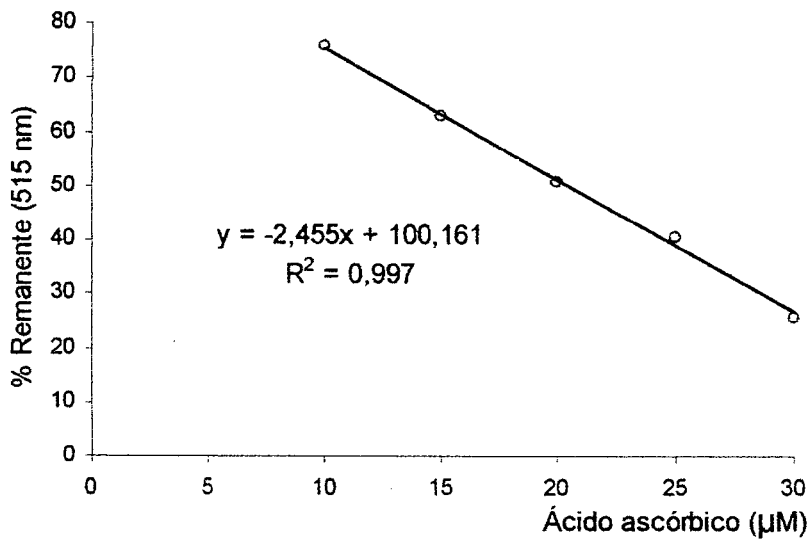
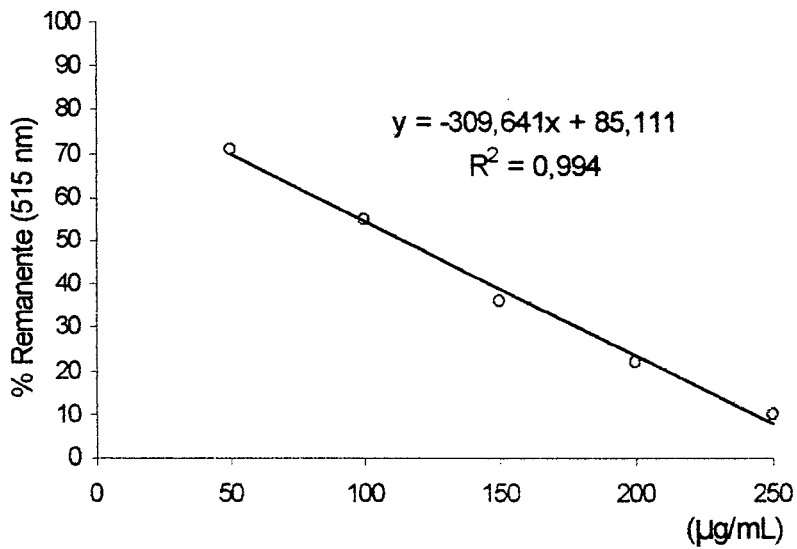


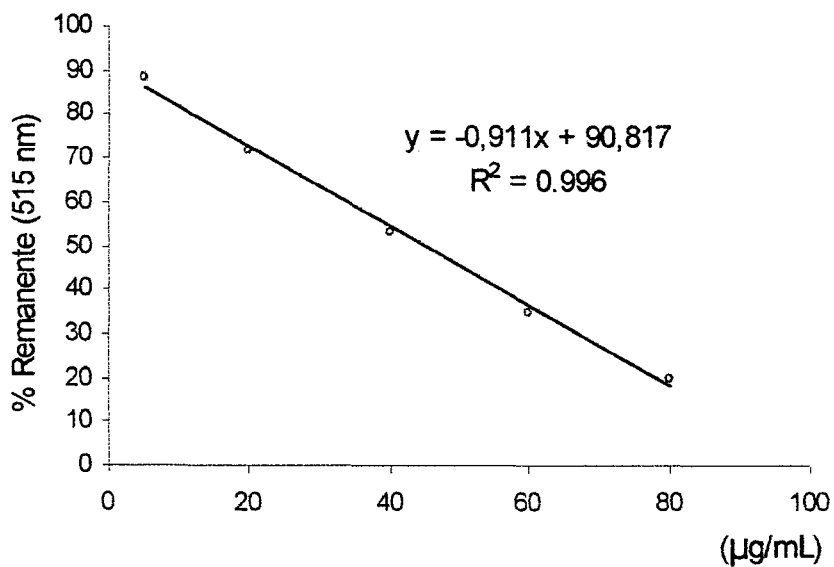
Figura 25. Curva de calibración del radical DPPH.



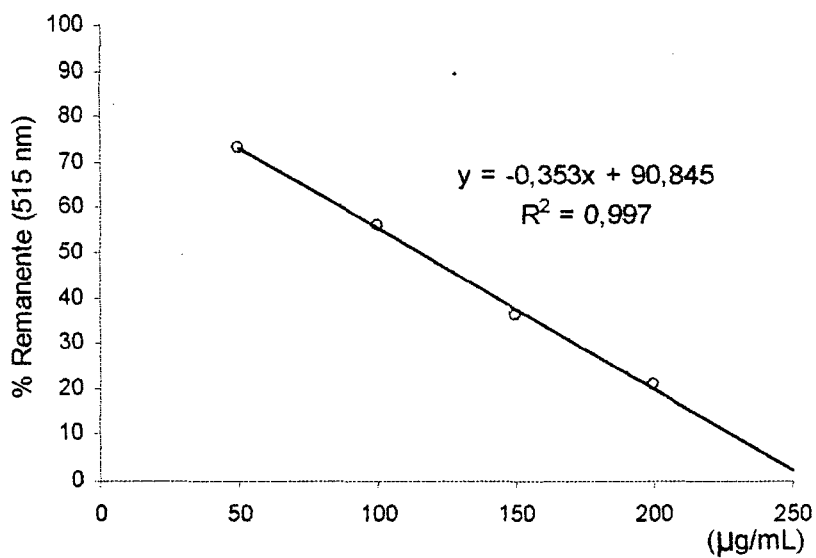
**Figura 26.** Curva remanente del radical DPPH frente al ácido ascórbico.



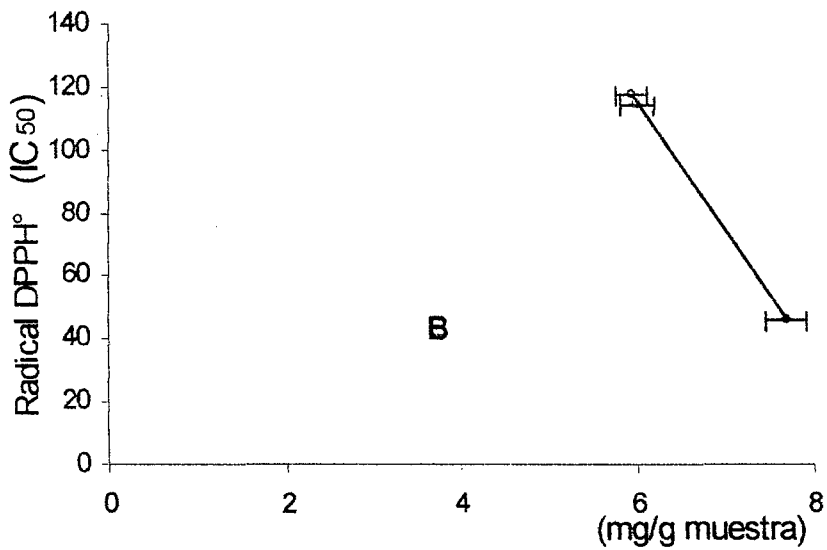
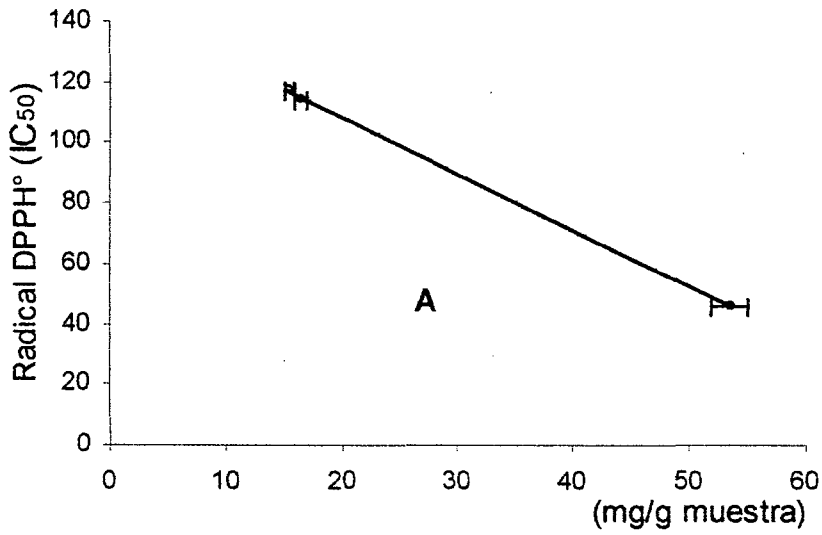
**Figura 27.** Remanente de la reacción del radical DPPH frente al extracto acuoso de la cáscara madura de Camu Camu.



**Figura 28.** Remanente de la reacción del radical DPPH frente al extracto acuoso de la cáscara pintón de Camu Camu.

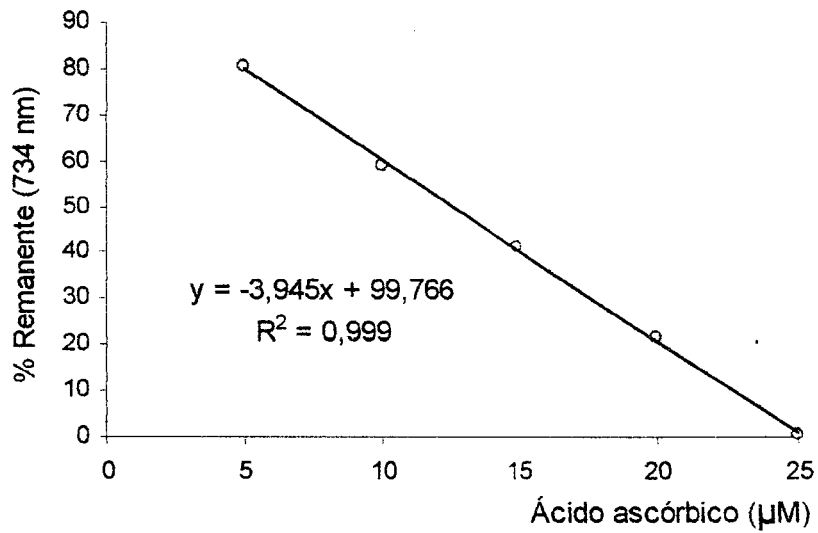


**Figura 29.** Remanente de la reacción del radical DPPH frente al extracto acuoso de la cáscara verde de Camu Camu.

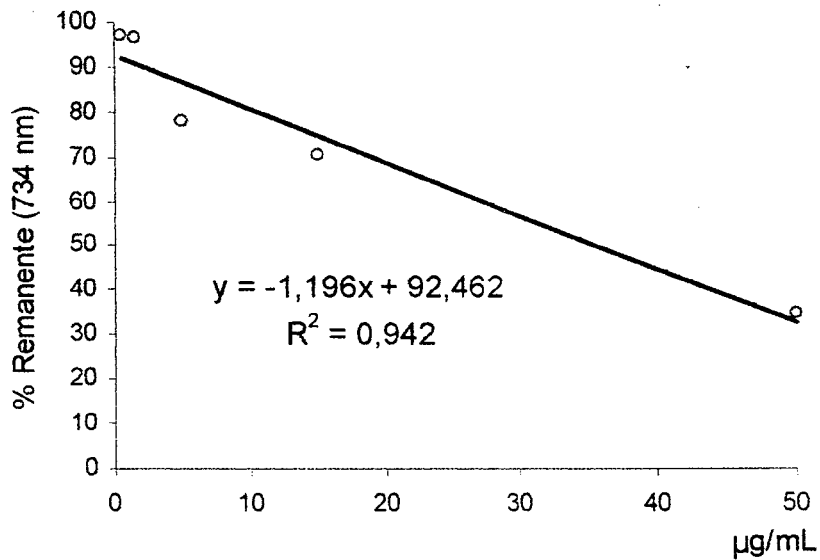


**Figura 30.** Efecto del ácido ascórbico (A) y polifenoles totales (B) en la capacidad antioxidante del radical DPPH. Coeficiente de correlación evaluado mediante el ploteo de IC<sub>50</sub> respecto al ácido ascórbico ( $r = 0,999$ ) y polifenoles totales ( $r = 0,999$ ).

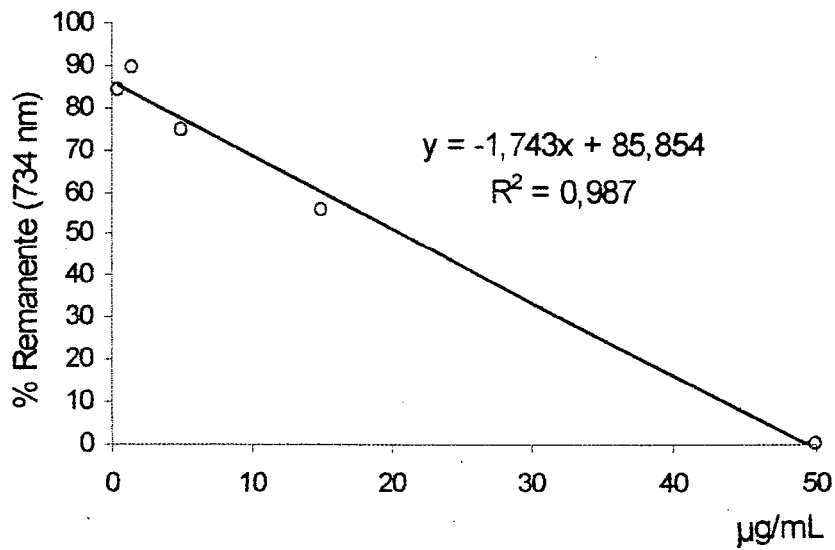
### Anexo V



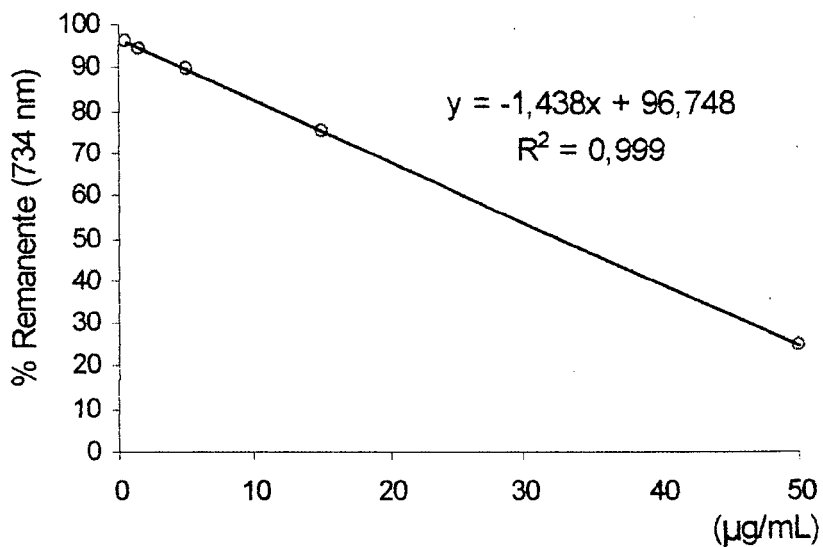
**Figura 31.** Remanente de la reacción del ABTS<sup>+</sup>, frente al ácido ascórbico.



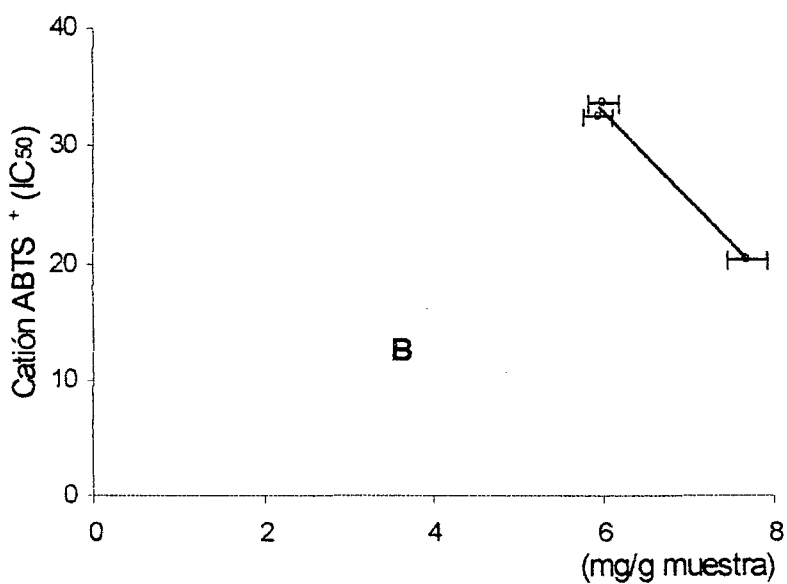
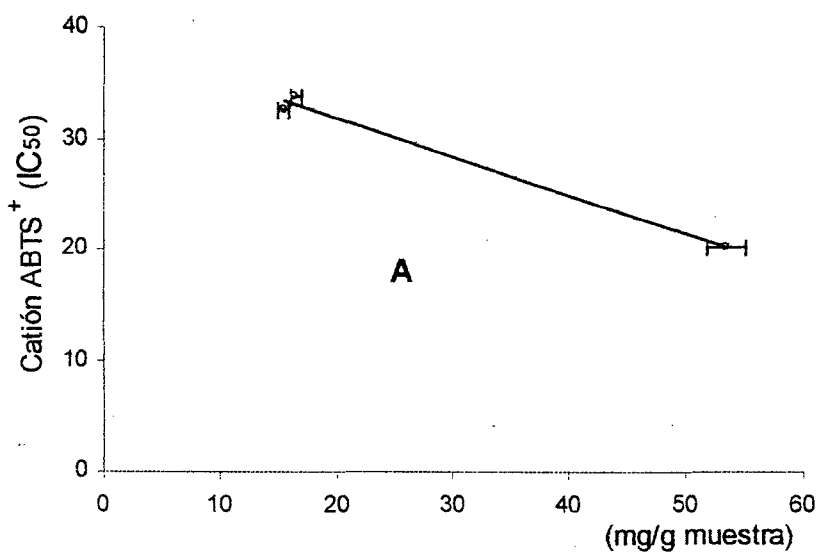
**Figura 32.** Remanente de la reacción del cation ABTS<sup>+</sup> frente al extracto acuoso de la cáscara madura de Camu Camu.



**Figura 33.** Remanente de la reacción del catión  $ABTS^+$  frente al extracto acuoso de la cáscara pintón de Camu Camu.



**Figura 34.** Remanente de la reacción del  $ABTS^+$  frente al extracto acuoso de la cáscara verde de Camu Camu.



**Figura 35.** Efecto del ácido ascórbico (A) y polifenoles totales (B) en la capacidad antioxidante del catión ABTS<sup>+</sup>. Coeficiente de correlación evaluado mediante el ploteo de IC<sub>50</sub> respecto al ácido ascórbico ( $r = 0,994$ ) y polifenoles totales ( $r = 0,993$ ).

### Anexo VI

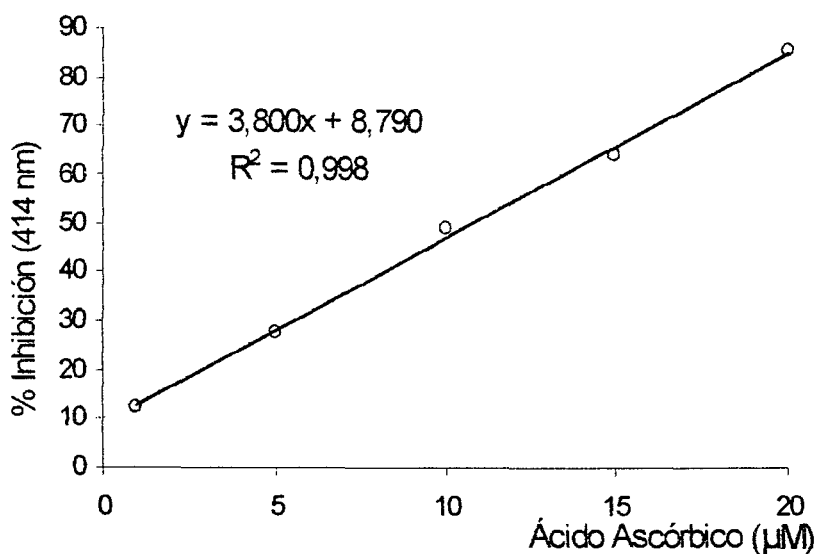


Figura 36. Curva de calibración radical peroxilo frente al ácido ascórbico.

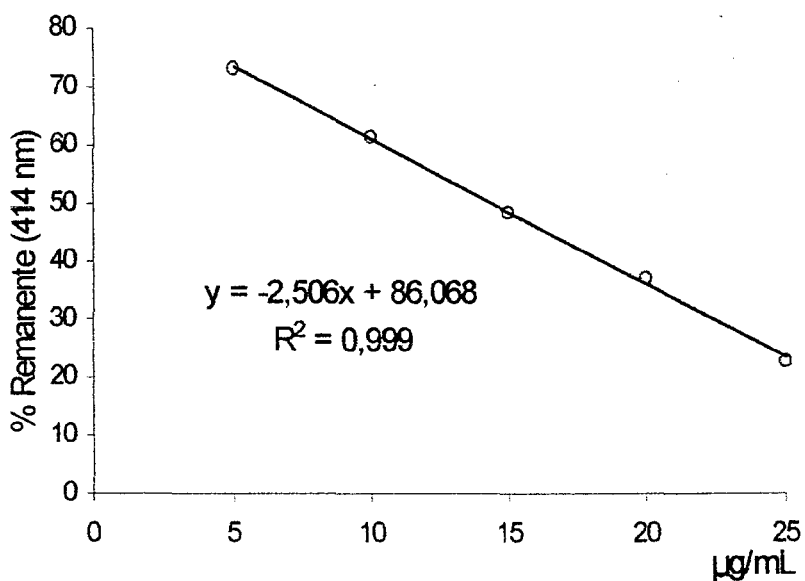
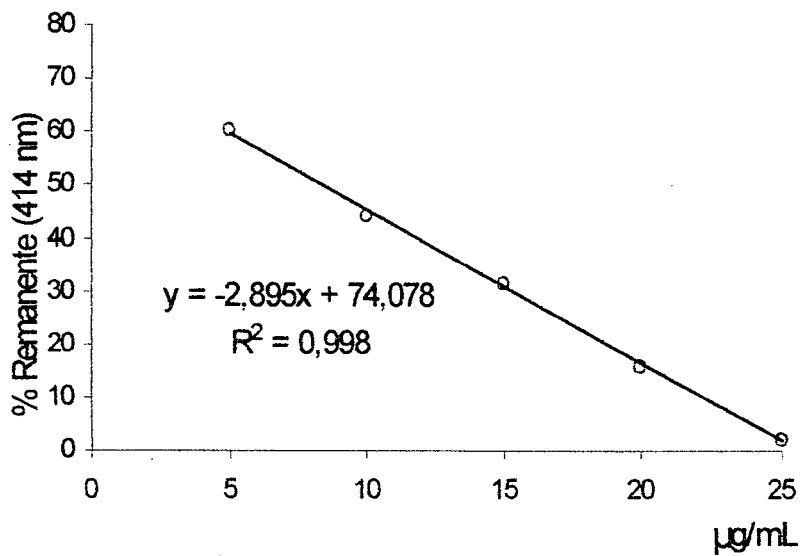
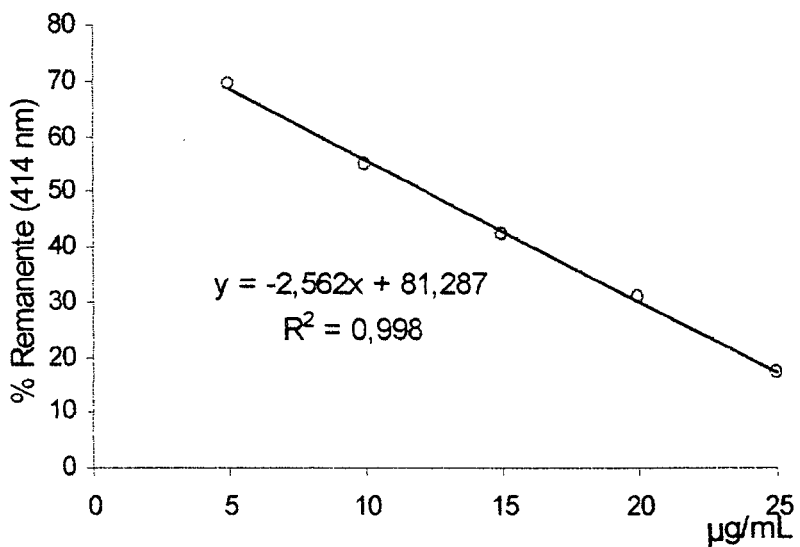


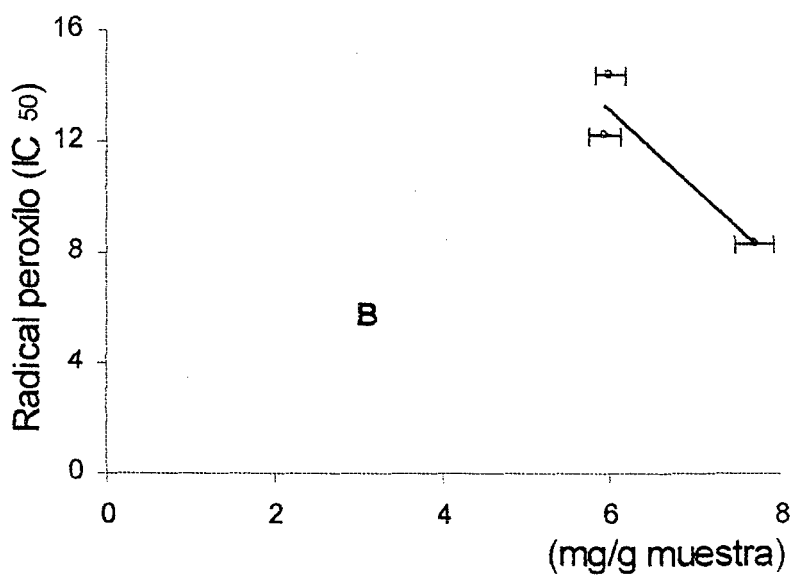
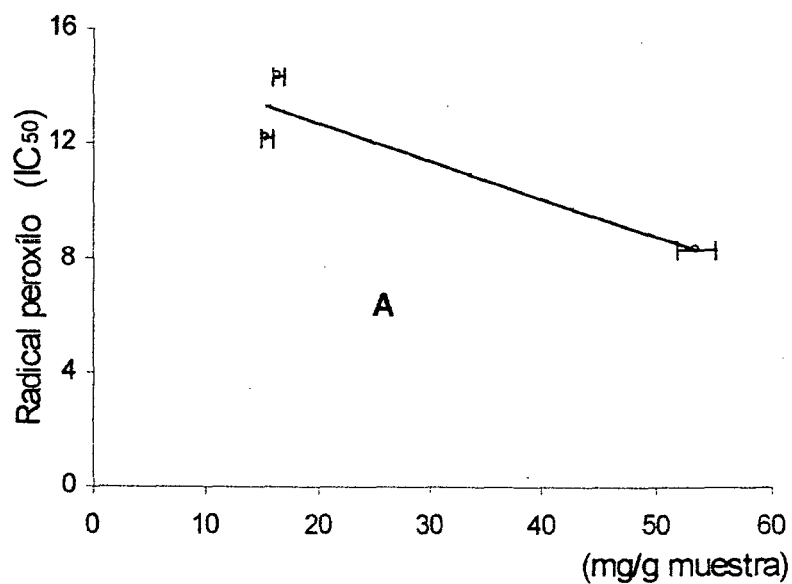
Figura 37. Remanente de la reacción del radical peroxilo, frente al extracto acuoso de la cáscara maduro de Camu Camu.



**Figura 38.** Remanente de la reacción del radical peróxido, frente al extracto acuoso de la cáscara pintón de Camu Camu.



**Figura 39.** Remanente de la reacción del radical peróxido, frente al extracto acuoso de la cáscara verde de Camu Camu.



**Figura 40.** Efecto del ácido ascórbico (A) y polifenoles totales (B) en la capacidad antioxidante del radical peroxilo. Coeficiente de correlación evaluado mediante el plotéo de IC<sub>50</sub> respecto al ácido ascórbico ( $r = 0,926$ ) y polifenoles totales ( $r = 0,923$ ).

**Análisis de varianza para el coeficiente de inhibición IC<sub>50</sub> en la cáscara en estado seco de Camu Camu frente al radical DPPH.**

F.V	g.l.	S.C	F calculado	Pr > F
Tratamiento	2	9381,78	936,51	0,0001
Error	6	30,05		
Total	8	9411,83		

**Análisis de varianza para el ácido ascórbico equivalente (AAE) de las muestras de cáscara de Camu Camu seca frente al radical DPPH.**

F.V	g.l.	S.C	F calculado	Pr > F
Tratamiento	2	0,96	3,88	0,0001
Error	6	0,74		
Total	8	1,70		

**Análisis de varianza para la capacidad de reacción (K<sub>2</sub>) de los extractos acuosos de la cáscara de Camu Camu en estado seco frente al radical DPPH.**

F.V	g.l.	S.C	F calculado	Pr > F
Tratamiento	2	15,26	163,85	0,0001
Error	6	0,28		
Total	8	15,54		

## Anexo VII

**Análisis de varianza para el contenido de vitamina C en la cáscara en estado fresco de Camu Camu.**

F.V	g.l.	S.C	F calculado	Pr > F
Tratamiento	2	11392,49	5589,27	0,0001
Error	6	6,11		
Total	8	11398,60		

**Análisis de varianza para el contenido de vitamina C en la cáscara en estado seco de Camu Camu.**

F.V	g.l.	S.C	F calculado	Pr > F
Tratamiento	2	282755,65	3134,82	0,0001
Error	6	270,60		
Total	8	283026,24		

**Análisis de varianza para el contenido de polifenoles totales en la cáscara en estado seco de Camu Camu.**

F.V	g.l.	S.C	F calculado	Pr > F
Tratamiento	2	5,89	26,82	0,0001
Error	6	0,66		
Total	8	6,55		

**Análisis de varianza para el ácido ascórbico equivalente (AAE) de las muestras de cáscara de Camu Camu seca frente al radical peroxílo.**

F.V	g.l.	S.C	F calculado	Pr > F
Tratamiento	2	0,48	2,98	0.0001
Error	6	0,48		
Total	8	0,96		

**Análisis de varianza para el coeficiente de inhibición IC<sub>50</sub> en la cáscara en estado seco de Camu Camu frente al Cation ABTS<sup>+</sup>.**

F.V	g.l.	S.C	F calculado	Pr > F
Tratamiento	2	335,28	15,86	0,0001
Error	6	63,40		
Total	8	398,68		

**Análisis de varianza para el ácido ascórbico equivalente (AAE) de las muestras de cáscara de Camu Camu seca frente al cation ABTS<sup>+</sup>.**

F.V	g.l.	S.C	F calculado	Pr > F
Tratamiento	2	4,03	20,35	0,0001
Error	6	0,59		
Total	8	4,63		

**Análisis de varianza para el coeficiente de inhibición IC<sub>50</sub> en la cáscara en estado seco de Camu Camu frente al radical peroxilo.**

F.V	g.l.	S.C	F calculado	Pr > F
Tratamiento	2	57.35	102.44	0.0001
Error	6	1.68		
Total	8	59.03		