



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

TESIS

**“ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS
ACUOSO Y ALCOHÓLICO DE LA CÁSCARA Y LA PULPA
DEL FRUTO *Myrciaria dubia* CAMU CAMU”**

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

BACHILLER: ALTAMIRANO TINCOPA, Edwar A.

ASESOR: Mg. JARAMILLO BRICEÑO, Marilú R.

LIMA – PERÚ

2015

Agradezco a mi asesora de tesis, Mg. Marilú R. Jaramillo Briceño por el apoyo brindado hasta la finalización de mi trabajo de investigación

A mis padres y a mi hijo que siempre son el motivo principal para realizar los objetivos de mi vida.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad antioxidante de los extractos acuosos y alcohólicos de la cáscara y pulpa del fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu. Las muestras del fruto fueron adquiridas en el mercado N°2 de Breña – Lima.

Se utilizaron los métodos DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) y ABTS (Acido 2, 2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6- sulfónico) para la determinación de la capacidad antioxidante los cuales fueron realizados en el Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Para comprobar los diferentes metabolitos que contienen los extractos acuosos y alcohólico del fruto del Camu Camu se realizó la marcha fitoquímica.

En el análisis fitoquímico se pudo comprobar que el fruto presenta elevado contenido de flavonoides; carbohidratos, azúcares reductores y compuestos fenólicos en concentraciones medias. Se determinó la actividad antioxidante de los extractos por el método IC50-DPPH obteniendo los valores promedios (mg/ml): pulpa acuoso 0.751+-0.029, pulpa etanol 0.140+- 0.002, cáscara acuoso 0.277+-0.016, cáscara etanol 0.099+-0.005; TEAC-DPPH (mg Trolox/mg extracto): pulpa acuoso 4.37, pulpa etanol 23.47, cáscara acuoso 11.85, cáscara etanol 32.99; IC50-ABTS(mg/ml) : pulpa acuoso 0.572, pulpa etanol 0.101, cáscara acuoso 0.197 y cáscara etanol 0.080.

Conclusión:

Las muestras analizadas de los extractos acuosos y alcohólicos de la cáscara y la pulpa del fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu presentan actividad antioxidante.

ABSTRACT

The present research work aimed to evaluate the antioxidant activity of aqueous and alcoholic extracts of the peel and pulp of the fruit of *Myrciaria dubia*-Camu Camu. The fruit samples were acquired in the market N ° 2 of Breña - Lima.

Used methods DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrilhidrazilo) and ABTS (Acido2, 2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfonic acid) for the determination of the antioxidant capacity which were performed at the Research Center for Biochemistry and nutrition of the Universidad Nacional Mayor de San Marcos. To check the different metabolites containing aqueous extracts and alcoholic of the fruit of the Camu Camu was the March phytochemistry.

In phytochemical analysis failed to check the fruit presents high content of flavonoids; carbohydrates, sugars and phenolic compounds in average concentrations. The antioxidant activity of the extracts was determined by the IC50-DPPH method obtaining the values of averages (mg/ml): pulp aqueous 0.751 - 0.029, pulp ethanol 0.140 - 0.002, aqueous shell 0.277 - 0.016, shell ethanol 0.099 - 0.005; TEAC-DPPH (Trolox/mg mg extract): aqueous 4.37 pulp, pulp ethanol 23.47, aqueous 11.85, ethanol 32.99 Shell Shell; IC50-ABTS(mg/ml): pulp aqueous 0,572, pulp ethanol 0.101, aqueous shell 0.197 and peel ethanol 0.080.

Conclusion:

Samples analyzed of aqueous and alcoholic extracts of the peel and the pulp of the fruit of *Myrciaria dubia*-Camu Camu have antioxidant activity.

ÍNDICE

CARÁTULA	I
AGRADECIMIENTO	II
DEDICATORIA	III
RESUMEN	IV
INTRODUCCIÓN	XI
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
1.1 Descripción de la Realidad Problemática	12
1.2 Formulación del Problema.....	13
1.2.1 Problema General.....	13
1.2.2 Problemas Secundarios.....	13
1.3 Objetivos de la Investigación.....	13
1.3.1 Objetivo Principal.....	13
1.3.2 Objetivos Específicos.....	13
1.4 Hipótesis de la Investigación.....	14
1.4.1 Hipótesis General.....	14
1.4.2 Hipótesis Secundarias.....	14
1.5 Justificación e Importancia de la Investigación	14
1.5.1 Justificación de la Investigación.....	14
1.5.2 Importancia de la Investigación.....	15

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	16
2.1 Antecedentes de la Investigación.....	16
2.1.1 Antecedentes Nacionales.....	16
2.1.2 Antecedentes Internacionales.....	19
2.2 Bases Teóricas.....	21
2.2.1 <i>Myrciaria dubia</i> Camu Camu	21
2.2.2 Radicales Libres	27
2.2.3 Las Defensas Antioxidantes	28
2.2.4 Métodos de Determinación de la actividad Antioxidante.....	30
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	34
3.1 Tipo de Investigación.....	34
3.1.1 Método.....	34
3.1.2 Técnica	34
3.1.3 Diseño.....	34
3.2 Población y Muestreo de la Investigación	34
3.2.1 Población	34
3.2.2 Muestra	35
3.3 Variables e Indicadores	35
3.3.1 Variable Independiente.....	35
3.3.2 Variable Dependiente.....	35
3.4 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos	35
3.4.1 Tratamiento de Camu Camu.....	35
3.4.2 Técnicas.....	36
3.4.1.1 Marcha Fitoquímica.....	36

3.4.1.2	Determinación de la actividad antioxidante por método DPPH(1.1-difenil-2-picrilhidrazilo).....	36
3.4.1.3	Determinación de la actividad antioxidante por método ABTS (Acido2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico).....	36
3.4.2	Instrumentos.....	37
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....		39
4.1	Resultados	39
4.1.1	Marcha fitoquímica de los extractos del Camu Camu.....	39
4.1.2	Capacidad antioxidante mediante la prueba de DPPH.....	40
4.1.3	Capacidad antioxidante mediante la prueba con ABTS.....	42
DISCUSIÓN.....		44
CONCLUSIONES.....		46
RECOMENDACIONES		47
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		48
ANEXOS		51

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N°1	FRUTO DEL CAMU CAMU	22
FIGURA N°2	PLANTA DEL CAMU CAMU	23
FIGURA N°3	UBICACIÓN GEOGRAFICA DEL CAMU CAMU.....	24
FIGURA N°4	COMPOSICIÓN QUIMICA DEL <i>Myrciaria dubia</i> EN 100gr.DE PULPA FRESCA.....	25
FIGURA N°5	COMPOSICIÓN QUIMICA DE <i>Myrciaria dubia</i>	25
FIGURA N°6	CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES, ANTOCIANINAS,FLAVONOIDES Y ÁCIDO ASCÓRBICO EN EL FRUTO DEL CAMU CAMU	27
FIGURA N°7	CURVA DE CALIBRACIÓN DEL TROLOX PARA EL ENSAYO DE DPPH.....	41
FIGURA N°8	MARCHA FITOQUIMICA DEL EXTRACTO ACUOSO DE LA CASCARA Y PULPA DEL FRUTO CAMU CAMU.....	51
FIGURA N°9	MARCHA FITOQUIMICA DEL EXTRACTO ALCOHOLICO DE LA CASCARA DEL FRUTO CAMU CAMU.....	51
FIGURA N°10	MARCHA FITOQUIMICA DEL EXTRACTO ALCOHOLICO DE LA PULPA DEL FRUTO CAMU CAMU.....	52

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N°1	MARCHA FITOQUÍMICA DE LOS EXTRACTOS DEL FRUTO <i>Myrciaria dubia</i> CAMU CAMU	39
TABLA N°2	COMPARACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE IC50- DPPH Y TEAC-DPPH DE LAS MUESTRAS DE LOS EXTRACTOS DE PULPA Y CÁSCARA DEL FRUTO CAMU CAMU	40
TABLA N°3	COMPARACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE IC50-ABTS DE LAS MUESTRAS DE LOS EXTRACTOS DE CÁSCARA Y PULPA DEL FRUTO CAMU CAMU.....	42

INTRODUCCIÓN

El Camu Camu *Myrciaria dubia* es una especie nativa de la Amazonía, crece principalmente en Perú, Colombia, Brasil y Venezuela en forma silvestre. Su hábitat natural son los suelos aluviales inundables, crece en estado silvestre en las cochas, lagos, quebradas y ríos tributarios del río Amazonas.

Esta planta se caracteriza principalmente por su alto contenido en ácido ascórbico, que supera significativamente a cítricos, como el limón y la naranja (50 a 60 veces más), además contiene compuestos fenólicos como ácido clorogénico, ácido caféico, ácido ferúlico, morina, quercetina, antocianinas, debido a esta característica el Camu Camu presenta un gran interés para ser explotado en las industrias farmacéutica, cosmética y agroindustria.

Recientemente se ha desarrollado un creciente interés por los polifenoles que se encuentran en algunas plantas, por su gran potencial antioxidante generando beneficios en la salud humana, especialmente los polifenoles contenidos en frutas y verduras. Estos antioxidantes naturales son valorados porque pueden ser utilizados en el diseño de alimentos funcionales o nutraceuticos, productos cosméticos, etc. Los antioxidantes son muy importantes para la salud, debido a su capacidad de neutralizar radicales libres, que son compuestos que contienen uno o más electrones desapareados, siendo responsables de muchas enfermedades degenerativas, como cataratas, arterioesclerosis, muerte celular y cáncer, asimismo por su capacidad de eliminar y atrapar compuestos que alteran el ADN como metales tóxicos y la inhibición de enzimas activadoras de precarcinógenos.

Tomando en cuenta que el consumo de antioxidantes de origen natural previene las enfermedades degenerativas se planteó el presente trabajo de investigación con el objetivo de evaluar la actividad antioxidante de los extractos acuosos y alcohólicos de la cáscara y pulpa del fruto *Myrciaria dubia* Camu Camu.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la Realidad Problemática

En la actualidad a nivel mundial se observa una tendencia a mayor longevidad, lo que trae como consecuencia el aumento de enfermedades degenerativas tales como hipertensión, diabetes, arterioesclerosis, cáncer, entre otras; los mecanismos que explican el proceso de envejecimiento son muchos, pero nos centraremos en aquellos que se producen como consecuencia del daño oxidativo producido por los radicales libres.

Los radicales libres son compuestos oxidantes que químicamente corresponden a moléculas que tienen uno o más electrones desapareados, motivo por el cual son compuestos de elevada reactividad por la necesidad de aparear su electrón.¹ Los radicales libres provocan reacciones en cadena, estas reacciones solo son eliminadas por la acción de otras moléculas conocidas como sistemas antioxidantes defensivos. Los seres humanos poseen mecanismos a través de los cuales producen y a la vez limitan la generación de estos radicales libres que en su mayoría son especies reactivas de oxígeno.

Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. El sistema de defensa antioxidante está constituido por compuestos endógenos de naturaleza enzimática como catalasa, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa y compuestos exógenos de naturaleza no enzimática como vitaminas E, C, beta caroteno, polifenoles, flavonoides, minerales, metales de transición como selenio, cobre, zinc.²

Se ha observado que el consumo de frutas y verduras está vinculado con una baja incidencia de enfermedades degenerativas. Por lo que hoy en día se promueve a través de diferentes instituciones y medios de comunicación una alimentación saludable, es decir que tenga aportes adecuados de alimentos que contengan antioxidantes, ya que la dieta juega un papel muy importante en el desarrollo de dichas enfermedades.³

Por lo anteriormente expuesto se realizó el presente trabajo de investigación con el objetivo de comprobar la actividad antioxidante de los extractos acuoso y alcohólico de la cáscara y la pulpa del fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu.

1.2 Formulación del Problema

1.2.1 Problema General

¿Presentaran actividad antioxidante los extractos acuoso y alcohólico de la cáscara y pulpa del fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu?

1.2.2 Problemas secundarios:

- ¿Presentará actividad antioxidante el extracto acuoso de la cáscara del fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu?
- ¿Presentará actividad antioxidante el extracto acuoso de la pulpa del fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu?
- ¿Presentará actividad antioxidante el extracto alcohólico de la cáscara del fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu?
- ¿Presentará actividad antioxidante el extracto alcohólico de la pulpa del fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu?

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo Principal

Comprobar la actividad antioxidante de los extractos acuoso y alcohólico de la cáscara y la pulpa del fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu.

1.3.2 Objetivos Específicos:

- Comprobar la actividad antioxidante del extracto acuoso de la cáscara del fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu.
- Comprobar la actividad antioxidante del extracto acuoso de la pulpa del fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu.

- Comprobar la actividad antioxidante del extracto alcohólico de la cáscara del fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu.
- Comprobar la actividad antioxidante del extracto alcohólico de la pulpa del fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu.

1.4 Hipótesis de la Investigación

1.4.1 Hipótesis General

Los extractos acuoso y alcohólico de la cáscara y la pulpa del fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu poseen actividad antioxidante.

1.4.2 Hipótesis Secundarias

- El extracto acuoso de la cáscara del fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu tiene actividad antioxidante.
- El extracto acuoso de la pulpa del fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu tiene actividad antioxidante.
- El extracto alcohólico de la cáscara del fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu tiene actividad antioxidante.
- El extracto alcohólico de la pulpa del fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu tiene actividad antioxidante.

1.5 Justificación e Importancia de la Investigación

1.5.1 Justificación de la Investigación

El hecho de que la población a nivel mundial alcance una mayor expectativa de vida trae consigo el aumento de enfermedades degenerativas lo que se traduce en un mayor gasto para el estado y las familias, por lo que es necesario desarrollar investigaciones en busca de alternativas que eviten el desarrollo de dichas enfermedades y mejoren la calidad de vida de la ciudadanía en general. Ya se conoce que diversos compuestos como los fenólicos tienen propiedades antioxidantes y que estos a su vez ayudan a combatir el daño

causado por los radicales libres por lo tanto se convierte en una prioridad descubrir nuevas fuentes de antioxidantes.

El fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu es una especie nativa, silvestre y cultivada en la región amazónica, cuya importancia radica en el alto contenido de vitamina C, antocianinas y compuestos fenólicos presentes en la pulpa y cáscara de sus frutos⁴. El propósito de esta investigación fue comprobar la actividad antioxidante de los extractos acuoso y alcohólico de la cáscara y la pulpa del fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu.

De esta manera se contribuiría a difundir el uso racional y sostenible de este fruto que forma parte de nuestra biodiversidad botánica. Además se podrían formular alimentos funcionales, cosméticos, fitofármacos para aprovechar este recurso natural.

1.5.2 Importancia de la Investigación

Este trabajo es importante porque se desea comprobar las propiedades antioxidantes del fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu, para consumirlo como parte de nuestra dieta en forma habitual evitando así el daño causado por los radicales libres y el efecto nocivo de contaminantes externos que pueden provocar diversas enfermedades, de esta manera se contribuirá a mejorar la calidad de vida de la población.

Además en forma indirecta se contribuirá a mejorar la calidad de vida de los pobladores que habitan en los alrededores del hábitat de esta planta, ya que aumentaría la demanda interna de este fruto al conocer sus propiedades antioxidantes y posteriormente se podría llegar a organizar cadenas productivas de este fruto pues tendrían asegurado un mercado local.

CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la Investigación

2.1.1 Antecedentes Nacionales

Sotomayor P, en su tesis realizada en el año 2000, de título “INFLUENCIA DE LOS ENCAPSULANTES Y LAS TEMPERATURAS DE SECADO EN LA CALIDAD DEL CAMU CAMU (*Myrciaria dubia*) LIOFILIZADO” nos habla sobre el estudio de la influencia de los encapsulantes y las temperaturas de placa sobre la calidad del Camu Camu liofilizado. Se trabajó con fruta cuyo estado fue: Brix 6:1, pH 2.68, acidez 2.63 g% (ácido cítrico) y un contenido de 2292.67 mg% de ácido ascórbico. Como viabilizadores del secado se emplearon tres encapsulantes: CMC (0.1, 0.2 y 0.3%), gelatina (0.1, 0.5 y 1.0%) y dextrina (1.0, 1.5 y 2.0%), obteniendo mejores resultados con 1.5% de dextrina debido a que el producto obtenido contenía mayor porcentaje de vitamina C (18, 145.13 mg% ácido ascórbico), buena retención del sabor y color, altos rendimientos (97.2%) y menores humedades residuales. De las tres temperaturas (40, 50 y 60°C) de placa se determinó que a medida que ésta aumenta, afecta inversamente la retención de vitamina C, el sabor, humedad residual, tiempo de secado y rendimiento, y directamente proporcional con el color por efecto de pardeamiento; por lo que los productos obtenidos a 40°C reunieron mayores condiciones de calidad. Bajo las condiciones expuestas, el producto obtenido al ser evaluado reportó: 5.20% de humedad residual, proteína 8.6%, grasa 0.69%, ceniza 2.57%, fibra 2.72%, carbohidratos 80.42%, azúcares reductores 27.32%, una acidez total de 25.55 g% (ácido cítrico), pH 3.00, una retención de vitamina C de 85.74% y un rendimiento de 97.2%.⁵

El trabajo realizado en la Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María, Perú; por los investigadores Villanueva-Tiburcio, J. Condezo-Hoyos, L. y Ramírez E, titulado “ANTOCIANINAS, ÁCIDO

ASCÓRBICO, POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, EN LA CÁSCARA DE CAMU-CAMU (*Myrciaria dubia* (H.B.K) MCVAUGH)” en el año 2010. En este trabajo los objetivos fueron evaluar el contenido de antocianinas, ácido ascórbico, y polifenoles totales, en la cáscara fresca y seca de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) McVaugh) en diferentes estados de madurez; evaluar la actividad antioxidante en la cáscara seca, usando diferentes tipos de radicales (DPPH, ABTS⁺ y Peroxilo) y correlacionar el valor de ácido ascórbico y polifenoles totales con la actividad antioxidante. La extracción fue realizada en medio acuoso, y los resultados de las evaluaciones de cada experimento fueron analizados por un diseño completamente al azar (DCA), según la prueba de *t-student* ($p < 0,05$). El extracto de la cáscara de la muestra madura fresca mostró las concentraciones más elevadas de ácido ascórbico y antocianinas en relación al pintón y verde, con 21,95 mg.g⁻¹cáscara, y 46,42 mg.L⁻¹ de cianidin-3-glucósido, respectivamente, mientras que el extracto de la cáscara seca del pintón mostró el mayor valor de ácido ascórbico y polifenoles totales con 53,49 mg.g⁻¹ muestra y 7,70 mg de Ac. Gálico/g muestra. La mayor actividad antioxidante, la presentaron los extractos de la cáscara seca de muestra pintón, con IC₅₀ = 46,20; 20,25 y 8,30 µg.mL⁻¹ frente a los radicales DPPH, ABTS⁺ y Peroxilo respectivamente. ¹

Ramos E., Castañeda B., Ibáñez L., en el año 2008, realizaron un trabajo de investigación titulado “EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE PLANTAS MEDICINALES PERUANAS NATIVAS E INTRODUCIDAS”. El objetivo del trabajo fue evaluar la capacidad antioxidante de nueve extractos de plantas medicinales *Cinnamomum zeylanicum* canela, *Calophyllum brasiliense* lagarto caspi, *Myrciaria dubia* camu camu, *Minthostachys mollis* muña, *Alchornea castaneifolia* hiporuro, *Smallanthus sonchifolius* yacón, *Lepidium peruvianum* maca por el método de la decoloración del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil DPPH comparado con la vitamina C. Obtuvieron los siguientes resultados el extracto metanólico de la corteza de canela mostró 97,59%

de actividad antioxidante, el extracto alcohólico del fruto de Camu Camu 98,09% de actividad antioxidante, el extracto acuoso de las hojas de muña 92,41%, el extracto metanólico de las hojas de hiporuro 75,96%, el extracto acuoso del hipocótilo de maca 95,55%, el extracto metanólico de las hojas de lagarto caspi 99,76%, comparados con al ácido ascórbico que presento una actividad antioxidante de 92,82% ⁶.

En el año 2009 Muñoz A., Ramos-Escudero F., Alvarado-Ortiz C., Castañeda B., Lizaraso F. realizaron una investigación titulada “EVALUACIÓN DE COMPUESTOS CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA EN CÁSCARA DE CAMU CAMU (*Myrciaria dubia*), GUINDA (*Prunus serotina*), TOMATE DE ÁRBOL (*Cyphomandra betacea*) Y CARAMBOLA (*Averrhoa carambola L.*) CULTIVADOS EN PERÚ”. El objetivo de la investigación fue evaluar el contenido de compuestos con actividad biológica, determinación de polifenoles totales y la actividad antioxidante utilizando la eficiencia antirradicalaria de los polifenoles frente al radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), en las cáscaras de carambola, tomate de árbol, guinda, camu camu y su capacidad de secuestro de radicales libres producidos por el sistema ABTS/ABAP. Las muestras presentaron diferencia significativa ($p < 0,05$) según la prueba de Tukey estandarizada, en el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante medido por su coeficiente de inhibición (IC50).

Los resultados indican que la cáscara de camu camu presenta mayor contenido de polifenoles y capacidad antioxidante. Las muestras estudiadas resultan ser una buena fuente de antioxidantes sobre todo de compuestos fenólicos, cuyo uso podría ser adecuado en la formulación de alimentos funcionales. ⁷

Sotero V., Silva L., Garcia D., Iman S., ejecutaron un estudio, en el año 2009, titulado “EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA PULPA, CÁSCARA Y SEMILLA DEL FRUTO DEL CAMU CAMU (*Myrciaria dubia* H.B.K.)” para determinar la actividad antioxidante de la pulpa, cáscara y semilla del Camu Camu colectado en el banco de Germoplasma del Instituto Nacional de innovación Agraria INIA-Loreto.

Se realizó la evaluación de la actividad antioxidante mediante el secuestro de radicales libres del DPPH. Se determinó la concentración de compuestos fenólicos y ácido ascórbico, mediante el método espectrofotométrico y por cromatografía de HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Eficacia). Se observó que el mejor resultado en cuanto a la actividad antioxidante la presentó la cáscara del Camu Camu con IC50 (concentración media inhibitoria) de 146.94 µg/ml, seguido de la pulpa con 167,67 µg/ml y con menor actividad la semilla con 399,77 µg/ml. Las mejores concentraciones para compuestos fenólicos se obtuvo en pulpa seca (23168,0 mg/100g) y en cáscara seca (17905,5 mg/100g). Las concentraciones de ácido ascórbico en peso seco, reportaron la mayor concentración en pulpa: 14337,94 mg/100g y cáscara: 10506,37 mg/100g, siendo inferior en semilla: 87,08 mg/100g. En la pulpa y cáscara del Camu Camu se encontraron ácido clorogénico, catequina, epicatequina y rutina, destacando la catequina en cáscara con 47,29 mg/100g.⁸

2.1.2 Antecedentes Internacionales

En el año 2012 IRANZO G, MILAN S, ejecutaron en España una investigación titulada “COMPOSICIONES ANTIOXIDANTES DE UN PRODUCTO OBTENIDO DEL FRUTO DE CAMU CAMU”. El trabajo tuvo como objetivo obtener un producto antioxidante a partir de frutos de Camu Camu (*Myrciaria dubia*). La invención trata de un procedimiento de obtención de un producto de frutos de *Myrciaria dubia* con un estado de maduración del 20-30%, eliminación de las semillas de los frutos seleccionados y secado de los frutos sin semillas a una temperatura menor de 60°C. También trata del producto obtenido y sus usos.⁹

En el año 2012 M. Quiñones, M. Miguel, A. Aleixandre realizaron en España un estudio titulado “LOS POLIFENOLES, COMPUESTOS DE ORIGEN NATURAL CON EFECTOS SALUDABLES SOBRE EL SISTEMA CARDIOVASCULAR”. En este trabajo mencionan que en los últimos años diversos estudios han avalado los efectos beneficiosos de la ingesta de polifenoles sobre la salud, especialmente sobre el sistema

cardiovascular. Esto es importante, porque las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en el mundo. Los efectos de los polifenoles son principalmente una consecuencia de sus propiedades antioxidantes. Ya que estos compuestos presentan efectos vasodilatadores, además son capaces de mejorar el perfil lipídico y atenúan la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL). Estos compuestos son a su vez capaces de modular los procesos de apoptosis en el endotelio vascular y presentar claros efectos antiinflamatorios.¹⁰

En el estado de Brasil, en el año 2005, Kuskosy E, Asuero A, Troncoso A., realizaron un trabajo titulado “APLICACIÓN DE DIVERSOS MÉTODOS QUÍMICOS PARA DETERMINAR ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN PULPA DE FRUTOS”. El Brasil es considerado uno de los principales países productores de zumos de frutos, ocupando en concreto la tercera posición respecto a esto. La diversidad de frutos en el mercado es cada vez mayor, introduciéndose diariamente nuevos frutos tropicales cuyas propiedades y actividades no están aun totalmente determinadas.

El gobierno brasileño apoya el comercio exterior de frutos, invirtiendo fondos en exposiciones que promueven y sitúan a los nuevos productos en los países de la Unión Europea, tal como la “*Brazilian Fruit Festival*” que promociona frutos in natura, pulpas congeladas y zumos procesados. Se publican cada vez en mayor número nuevas investigaciones que asocian el consumo de frutas con efectos beneficiosos para la salud humana. Este trabajo tiene por objeto la determinación del índice de fenoles totales (FT), antocianos totales (AT) y la capacidad antioxidante de las pulpas de frutos comerciales congelados, aplicando los métodos espectrofotométricos y químicos en boga para la determinación de la actividad antioxidante (ABTS, DPPH y DMPD). Se ha determinado la capacidad antioxidante de las pulpas de los frutos tropicales de mayor consumo en el mercado del sur de Brazil (mora, uva, açai, guayaba, fresa, acerola, piña, mango, graviola, cupuaçu y maracuyá) aplicando el método ABTS con medidas a dos tiempos (1 y 7 minutos), DPPH (30 y 60 minutos) y DMPD (10

minutos). Los valores TEAC (capacidad antioxidante equivalente al Trolox) obtenidos de las pulpas oscilan entre mínimos y máximos de 2,0 y 67,2 $\mu\text{mol/g}$ aplicando el ensayo ABTS, 1,02 y 67,0 $\mu\text{mol/g}$ aplicando DPPH y 4,2 y 46,6 $\mu\text{mol/g}$ aplicando DMPD. La capacidad antioxidante obtenida por los métodos ABTS y DPPH se encuentra correlacionada con el contenido de compuestos fenólicos y antocianos. Palabras clave: compuestos fenólicos, ensayos antioxidantes, pulpas de frutos tropicales.¹¹

2.2 Bases Teóricas

2.2.1 *Myrciaria dubia* CAMU CAMU

Clasificación taxonómica:

La especie *Myrciaria dubia* es originaria de la Amazonía, con abundante diversidad en Loreto, Perú. Fue determinada por el biólogo Hamilton Beltrán (Ver Anexo N°1)

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Rodisae
Orden: Myrtales
Familia: Myrtaceae
Género: *Myrciaria*
Especie: *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh

Nombres comunes: Camu-camu (Perú), guayabito (Venezuela), Caçari, Arazá de Agua y Crista de Galo (Brasil).¹²

Figura 1: FRUTO DEL CAMU CAMU



Fuente: Elaboración propia

Descripción Botánica:

El Camu Camu pertenece a la familia *Myrtaceae*, género *Myrciaria*, denominándosele como *Myrciaria dubia* (H.B.K.) *Mc Vaugh* y como *Myrciaria paraensis* *Beg*.

Es un arbusto que alcanza hasta los 4 m de altura y de raíces profundas.¹² Las hojas son simples, de borde liso, opuestas, ovaladas, elípticas, lanceoladas y algo asimétricas. La longitud varía entre 4,5 y 12,0 cm y el ancho entre 1,5 y 4,5 cm. El pecíolo es cilíndrico, de 5 a 9 mm de longitud y de 1 a 2 mm de diámetro. La raíz principal es de forma cónica, y contiene muchos pelos absorbentes.

La flor de color blanco uniforme, sub-sésil, con 4 pétalos; mide de 1 a 1,5 cm de diámetro. El eje contiene 4 flores, pedicelo de 1,5 mm de largo por 1 mm de diámetro. Los frutos son globosos, de superficie lisa y brillante, de color rojo oscuro hasta negro púrpura al madurar; miden de 2 a 4 cm de diámetro, con 1 a 4 semillas por fruto, siendo lo más común 2 a 3 semillas, con un promedio de peso de alrededor 8,4 g por fruto.¹³

Las semillas son reniformes, de 8 - 5 mm de largo y 5,5 - 11 mm de ancho. Es particularmente alto el contenido de vitamina C en su fruto, alcanza sus valores más elevados en frutos maduros.¹⁴

Figura 2: PLANTA DEL CAMU CAMU



Fuente: El Camu Camu. Fuente de vida. Datos tomados de la página:
[Http:// http://myrciariadubia-camucamu.blogspot.pe/p/descripcion-botanica.html](http://myrciariadubia-camucamu.blogspot.pe/p/descripcion-botanica.html)

Variabilidad:

La máxima concentración de poblaciones naturales, variedades y la mayor variabilidad genética se encuentran en el territorio amazónico peruano. El origen de la especie se encuentra con alta probabilidad en el territorio amazónico occidental. Evaluaciones de germoplasma de Camu Camu detallan la procedencia de 23 poblaciones situadas en localidades bajo la influencia de los ríos Ucayali, Tapiche, Yarapa, Nanay, Itaya, Ampiyacu, Apayacu, Oroza, Napo, Tahuayo y Amazonas, todos localizados en el departamento de Loreto. Esta caracterización permitió la identificación de cinco ecotipos, con rendimientos de frutos diferenciados.¹⁵

Figura 3: DISTRIBUCIÓN DEL CAMU CAMU EN EL PERÚ



Fuente: Datos obtenidos de la página:
http://www.peru.org.tw/web/data/file/userfiles/files/camu_camu_ficha.pdf

Composición Química:

Myrciaria dubia es rico en hierro, niacina, calcio, tiamina, riboflavina y fósforo. También contiene otros compuestos aromáticos volátiles y fitoquímicos de interés. Contiene los aminoácidos serina, valina y leucina, además de un importante porcentaje de β -caroteno, carbohidratos, fibra y cenizas.¹⁶

Figura 4: COMPOSICIÓN QUÍMICA DE *Myrciaria dubia* EN 100 GR. DE PULPA FRESCA

Componentes (g)		<i>Myrciaria dubia</i>
Calorías (cal)		26,86
Humedad		91,95
Proteínas		0,92
Carbohidratos		5,23
Fibra		0,78
Cenizas		0,53
Extracto Etéreo		0,59
Calcio	(mg)	50,00
Fósforo	(mg)	28,00
Hierro	(mg)	1,13
Magnesio	(mg)	46,00
Sodio	(mg)	9,80
Potasio	(mg)	16,30
Cobre	(mg)	0,98
Zinc	(mg)	2,90
Manganeso	(mg)	1,54
Acido Ascórbico	(mg)	2780,0

Fuente: Datos obtenidos de la página:
<http://www.iiap.org.pe/promamazonia/sbiocomercio/Upload%5CLineas%5CDocumentos/430.pdf>

Figura 5: COMPOSICIÓN QUÍMICA DE *Myrciaria dubia*

Componente	U. de medida	Cantidad.	Villachica*
Agua	%	93,00	94,40
Calorías	calorías	24,00	17,00
Proteínas	g	0,50	0,50
Carbohidratos	g	5,00	4,70
Grasa	g	0,10	-
Ceniza	g	0,20	-
Fibra	g	0,40	0,60
Calcio	mg	28,00	27,00
Fósforo	mg	15,00	17,00
Hierro	mg	0,50	0,50
Tiamina	mg	0,01	0,01
Riboflavina	mg	0,04	0,04
Niacina	mg	0,061	0,062
Acido Ascórbico Reducido	mg	2780,00	2780,00
Acido Ascórbico Total	mg	-	2994,00

Fuente: Instituto Nacional de Salud. 1996

El ácido ascórbico en el Camu Camu

Camu camu *Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh, es un recurso de la región Amazónica; que tiene un gran potencial como alimento funcional por presentar elevada capacidad antioxidante, debido principalmente a su alto contenido de ácido ascórbico, teniendo así importancia en la producción de concentrados y suplementos naturales de esta vitamina.

En los últimos años se ha incrementado la demanda por el consumo de alimentos y productos saludables, tal es el caso del Camu Camu, que viene contribuyendo como fuente natural de vitamina C, principalmente en el mercado de productos naturales.

El Camu Camu es considerado “tesoro amazónico” por ser un cultivo con alto potencial socioeconómico y nutricional para la región. Es un cultivo rentable para los agricultores de la región Amazónica por su bajo costo, además es económico y ecológico debido al número suficiente de semillas para las generaciones futuras.

El contenido de ácido ascórbico de los frutos de Camu Camu procedentes de diferentes regiones, en diferentes períodos de cosecha varía ampliamente, lo que se debe en gran parte a la influencia de factores genéticos y ambientales entre las diferentes poblaciones.

Es importante monitorear el contenido de ácido ascórbico en cultivos de Camu Camu procedentes de diferentes lugares, en diferentes estados de maduración del fruto para el control de factores pre y post cosecha.¹⁶

Polifenoles como antioxidantes en el Camu Camu

Los compuestos polifenólicos constituyen un grupo de antioxidantes que comprenden a los flavonoides, antraquinonas, cromonas, cumarinas entre otros. Como se observa en la figura N° 6 contiene polifenoles, antocianinas, flavonoides y ácido ascórbico. La ingesta de genisteína por ejemplo proporciona una resistencia incrementada a la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad LDL, así como, la inhibición de la formación radicales libres productos formados por lipoperoxidación.

El mecanismo de acción de los polifenoles está vinculado a su capacidad para donar hidrógeno y a su acción quelante de iones metálicos; la potente actividad antioxidante reside en sus estructuras químicas con un grupo o-difenólico, un doble enlace conjugado, 2 a 3 grupos hidroxilos en posiciones 3 y 5, lo que los torna muy eficientes contra los radicales hidroxilo y peroxilo.

FIGURA N°6: CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES, ANTOCIANINAS, FLAVONOIDES Y ÁCIDO ASCÓRBICO EN EL FRUTO DEL CAMU CAMU

Parte	Polifenoles, mg/100g	Antocianinas, mg/100g	Flavonoides, mg/100g	Ácido ascórbico, mg/100g
Pulpa	23168,00 ± 932,7	74,04 ± 4,7	994,97 ± 194,0	14337,94 ± 2506,1
Cáscara	17905,50 ± 1302,5	109,50 ± 33,8	2012,32 ± 102,1	10506,37 ± 5039,2
Semillas	2969,20 ± 113,1	35,33 ± 19,3	218,78 ± 0,1	87,08 ± 20,5

Fuente: Datos obtenidos de la página:
<http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v75n3/a03v75n3.pdf>

2.2.2 Radicales Libres

Los radicales libres son moléculas inestables y muy reactivas. Para conseguir la estabilidad modifican a moléculas de su alrededor provocando la aparición de nuevos radicales, por lo que se crea una reacción en cadena que dañará a muchas células y puede ser indefinida si los antioxidantes no intervienen. Los radicales libres producen daño a diferentes niveles en la célula:

- Atacan a los lípidos y proteínas de la membrana celular por lo que la célula no puede realizar sus funciones vitales (transporte de nutrientes, eliminación de desechos, división celular...).

El radical superóxido, O_2^- , que se encuentra normalmente en el metabolismo provoca una reacción en cadena de la lipoperoxidación de los ácidos grasos de los fosfolípidos de la membrana celular.

- Atacan al DNA impidiendo que tenga lugar la replicación celular y contribuyendo al envejecimiento celular. Los procesos normales del organismo producen radicales libres como el metabolismo de los alimentos, la respiración y el ejercicio. También estamos expuestos a elementos del medio ambiente que crean radicales libres como la contaminación industrial, tabaco, radiación, medicamentos, aditivos químicos en los alimentos procesados y pesticidas. No todos los radicales libres son peligrosos pues, por ejemplo, las células del sistema inmune crean radicales libres para matar bacterias y virus, pero si no hay un control suficiente por los antioxidantes, las células sanas pueden ser dañadas.¹⁷

2.2.3 Las defensas Antioxidantes

Los organismos aerobios disponen de una batería de defensas antioxidantes, para protegerse frente a la producción de radicales oxidrilo. Un antioxidante puede definirse como cualquier sustancia que está presente a bajas concentraciones comparadas con las del sustrato y retrasa significativamente o previene la oxidación de dicho sustrato. El término "sustrato oxidable" incluye todo tipo de biomoléculas: glúcidos, lípidos, proteínas y ADN.

Esencialmente, las defensas antioxidantes, se dividen en dos grandes grupos: los enzimáticos y los no enzimáticos:

- 1) Los enzimáticos están presentes en el organismo de los seres vivos y protegen frente a los RSOs (radicales libres de oxígeno producidos durante el metabolismo). Dentro de éstos, tenemos 3 principales: la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GPX).

La superóxido dismutasa SOD cataliza la dismutación del anión superóxido, originando peróxido de hidrógeno. Existen distintas formas, dependiendo del metal del centro catalítico: I₂, Zn, Cu-SOD citosólica, la Mn-SOD mitocondrial y la SOD extracelular.

La catalasa CAT es una enzima tetramérica que cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno en agua. Está presente en la mayoría de las células eucariotas, localizándose a nivel de los peroxisomas.

Por último, está la glutatión peroxidasa GPX, que también contribuye a la eliminación del peróxido de hidrógeno pero, a diferencia de la CAT, que usa el peróxido de hidrógeno como dador de electrones, utiliza el glutatión reducido. Existen dos formas: la selenio dependiente y la selenio independiente y, en vertebrados, se encuentran en el citosol y en las mitocondrias. Además está la glutatión reductasa, que se encarga de mantener la proporción GSH/GSSG (G/Glutation Disulfuro).

- 2) Los antioxidantes no enzimáticos están presentes en la dieta ingerida por los seres vivos, sobre todo en las frutas y verduras. Se caracterizan porque son sustancias capaces de neutralizar un único radical libre por molécula (cazadores estequiométricos), sólo actúan a concentraciones elevadas y tienen un papel despreciable frente a los anteriores.

Un primer grupo de antioxidantes no enzimáticos está constituido por moléculas reductoras hidrosolubles y de pequeño tamaño. Dentro de ellas tenemos al glutatión reducido y el ascorbato o vitamina C.

Pueden actuar tanto como prooxidantes o antioxidantes. Así pueden autooxidarse especialmente en presencia de metales, para producir especies reactivas de oxígeno EROS. Al ser hidrofílicos, no son efectivos frente a la peroxidación lipídica.

Un segundo grupo de antioxidantes no enzimáticos son las vitaminas liposolubles. Aquí están el α -tocoferol o vitamina E, que es capaz de impedir las reacciones, en cadena producidas por los radicales

hidroperoxilo durante la peroxidación lipídica y el α -caroteno, que ofrece una protección eficaz frente al oxígeno singlete.¹⁸

2.2.4 Métodos de Determinación de la Actividad Antioxidante

Existen diversos métodos para evaluar la actividad antioxidante, ya sea *in vitro* o *in vivo*.

Una de las estrategias más aplicadas en las medidas *in vitro* de la capacidad antioxidante total de un compuesto, mezcla o alimento, consiste en determinar la actividad del antioxidante frente a sustancias cromógenas de naturaleza radical; la pérdida de color ocurre de forma proporcional con la concentración. No obstante, las determinaciones de la capacidad antioxidante realizadas *in vitro* nos dan tan sólo una idea aproximada de lo que ocurre en situaciones complejas *in vivo*. La capacidad antioxidante de una mezcla no viene dada solo por la suma de las capacidades antioxidantes de cada uno de sus componentes; también depende del microambiente en que se encuentra el compuesto. Los compuestos interactúan entre sí pudiendo producirse efectos sinérgicos o inhibitorios. Por otra parte, es necesario considerar que los ensayos *in vivo* pueden presentar algunos inconvenientes, como la adaptabilidad en respuesta al aumento del estrés oxidativo. Alternativamente, diversos compuestos cromógenos (ABTS, DPPH, ORAC, y FRAP) son utilizados para determinar la capacidad de los compuestos fenólicos que contienen los frutos para captar los radicales libres generados, operando así contra los efectos perjudiciales de los procesos de oxidación, que implican a especies reactivas de oxígeno (EROS).¹⁰

Método de DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo)

En este ensayo desarrollado por Brand-Williams *et al*, se evalúa la capacidad que tiene un posible antioxidante para neutralizar un radical. El compuesto 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) es un radical estable que presenta una intensa coloración violeta y que absorbe radiación a 517 nm, de forma que su concentración se puede determinar mediante métodos espectrofotométricos. En el ensayo se determina la concentración inicial de DPPH y la concentración resultante una vez que se ha añadido el posible antioxidante, de forma que una disminución de la absorción de radiación se traduce en una disminución de la concentración de DPPH debida a la cesión de electrones de la especie antioxidante.²⁰

Método ABTS (ácido 2,2 azinobis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico).

El radical ABTS se genera a partir de su precursor el Ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS). El radical catiónico obtenido es un compuesto de color verde-azulado, estable y con un espectro de absorción en el UV-visible. Es un radical artificial que no mimetiza bien la situación in vivo, termodinámicamente puede ser reducido por compuestos que tengan un potencial redox menor que el del ABTS (0.68V), pudiendo reaccionar muchos compuestos fenólicos con un potencial más bajo. El punto final de la reacción lo marca la sustancia antioxidante empleada, fijando tiempos cortos o muy elevados que pueden interferir en los resultados finales, lo cual, es un inconveniente. La ventaja de este ensayo es que puede realizarse tanto en muestras hidrosolubles como liposolubles, eligiendo el disolvente apropiado en cada caso.

Existen varios métodos de generación del radical ABTS:

- Enzimáticamente (mioglobina, peroxidasa de rábano).
- Químicamente (dióxido de manganeso, persulfato potásico, radicales peroxilo).
- Electroquímicamente.

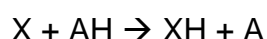
Método FRAP (*Ferric ion Reducing Antioxidant Power*).

En este método se determina la capacidad antioxidante de forma indirecta. Se basa en el poder que tiene una sustancia antioxidante para reducir el Fe^{+3} a Fe^{+2} que es menos antioxidante. El complejo férrico-2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) incoloro es reducido al complejo ferroso coloreado. Se trata de un método espectrofotométrico ya que se mide la absorbancia del Fe^{+2} . Así, cuanto más antioxidante es la sustancia objeto de estudio, mayor es la reducción y mayor la concentración de Fe^{+2} y más alta la señal de absorbancia. El complejo va a poder ser reducido por productos con potenciales redox menores a 0,7 V (potencial redox del Fe -TPTZ).

Debido a que el potencial redox del Fe^{+3} -TPTZ es comparable con el del ABTS se pueden analizar compuestos similares con ambos métodos aunque las condiciones de la reacción sean distintas. El mecanismo del FRAP es de transferencia de electrones, a diferencia de otros métodos donde se produce captura de radicales libres, según esto, el FRAP puede ser útil, en combinación con otros métodos, en la determinación de la capacidad antioxidante de productos que contengan distintos tipos de antioxidantes.

Método ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*)

El fundamento del método ORAC se basa en la habilidad que tienen los compuestos antioxidantes para bloquear radicales libres por donación de un átomo de hidrógeno:



En este método, el radical artificial AAPH (2,2'-Azobis-(2-aminopropano)-dihidrocloruro) oxida a la fluoresceína de forma que esta pierde su fluorescencia. De esta forma, las sustancias antioxidantes presentes en el extracto obtenido a partir del alimento disminuirían dicha pérdida de fluorescencia.²¹

Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox

La capacidad antioxidante equivalente de Trolox (en inglés *Trolox equivalent antioxidant capacity*, TEAC) mide la capacidad antioxidante de una

sustancia dada, en comparación con el estándar de Trolox, esto es medido en unidades llamadas Trolox equivalentes (TE), por ejemplo micromolTE/100 g.

El Trolox (*6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid*) vendido por Hoffmann-La Roche, es un antioxidante análogo hidrosoluble de alfa-tocoferol (Vitamina E). En virtud de su alta solubilidad en agua y su amplia disponibilidad Comercial, el Trolox es universalmente empleado como estándar en (las curvas de comparación de) diversos ensayos de Actividad antioxidante como ORAC (Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno) y TEAC (Capacidad Antioxidante Equivalente de Trolox), DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) y el ABTS (ácido 2,2 azinobis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico).²²

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Tipo de Investigación

3.1.1 Método

Se utilizó el método inductivo, explicativo y de carácter transversal; ya que se efectuó en un periodo corto de tiempo, de junio – noviembre del 2015.

También porque se analizaron varias investigaciones, se partió de datos generales para obtener datos específicos y conclusiones sobre el tema desarrollado.

Explicativo porque se empleó el método científico y se desarrolló un conjunto de procesos metódicos, sistemáticos, empíricos, controlados y críticos que se aplicaron al estudio para producir nuevos conocimientos.

El presente trabajo de investigación es del tipo descriptivo-prospectivo pues se tomaron en cuenta los hechos a partir de la fecha de estudio.

3.1.2 Técnica

La técnica utilizada para la determinación de la actividad antioxidante fue la del DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) y la del ABTS (Acido 2, 2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6- sulfónico)

3.1.3 Diseño

El diseño es experimental, ya que se analizaron los extractos acuosos y alcohólicos de las muestras del fruto tanto de la pulpa como de la cáscara, para comprobar su actividad antioxidante.

3.2 Población y Muestreo de la Investigación

3.2.1 Población

La población estuvo conformada por los frutos de *Myrciaria dubia* Camu Camu, proveniente de las zonas amazónicas de la región Loreto, comercializadas en el mercado N°2 de Breña.

3.2.2 Muestra

La muestra estuvo conformada por 5kg del fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu maduro adquiridos en el mercado N°2 de Breña.

3.3 Variables e Indicadores

3.3.1 Variable Independiente (x)

Variable	Indicadores
Extractos del Fruto de Camu Camu maduro	Componentes fitoquímicos

3.3.2 Variable Dependiente (y)

Variable	Indicadores
Compuestos fenólicos	Capacidad Antioxidante

3.4 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos.

3.4.1 Tratamiento de Camu Camu:

Muestra Extracto acuoso:

- 1.-Cáscara: 50 gramos de Camu camu (cáscara) para 200 ml de agua
- 2.-Pulpa: 50 gramos de Camu camu (pulpa) para 200 ml de agua

Muestra Extracto Alcohólico:

- 3.-Cáscara: 100 gramos de Camu camu (cáscara) para 500 ml de Etanol 70%
- 4.-Pulpa: 100 gramos de Camu camu (pulpa) para 500 ml de Etanol 70%

Posteriormente fueron almacenadas en cadena de frío hasta su utilización en las diversas pruebas.

3.4.2 Técnicas

3.4.1.1 Marcha Fitoquímica

Se han desarrollado una serie de métodos para la detección preliminar de los diferentes constituyentes químicos de la cascara y pulpa del Camu Camu. El análisis fitoquímico tiene como objetivo determinar los metabolitos secundarios presentes en la especie vegetal a estudiar, como por ejemplo flavonoides, terpenos, carbohidratos, antocianinas, antronas, alcaloides entre otros.

3.4.1.2 Determinación de la actividad antioxidante por método

DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo)

Fundamento: El 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) es un radical libre estable, presenta una coloración púrpura con absorbancia a 517 nm. Las sustancias atrapadoras de radicales libres (donadoras de H) reaccionan con este compuesto y producen la desaparición del color. La lectura inicial del DPPH debe tener una absorbancia de 0.6 ± 0.02 .

La reacción es seguida midiendo la disminución de la absorbancia a 517 nm. Los resultados se pueden expresar como IC50, o capacidad antioxidante equivalentes a trolox (TEAC-DPPH)

3.4.1.3 Determinación de la actividad antioxidante por método

ABTS (Acido2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6- sulfónico)

Fundamento: La molécula ABTS es el sustrato para la formación del radical libre catiónico $ABTS^+$ que se genera en reacción con el persulfato de potasio. Este radical en presencia de antioxidantes es reducido en función de la concentración del antioxidante y de la duración de la reacción. La capacidad

antioxidante se puede expresar como IC₅₀ que corresponde a la concentración de la muestra que decolora el radical libre catiónico ABTS^{•+} en un 50%.

Activación del radical ABTS^{•+}

Preparar una solución etanólica stock de ABTS 7 mM añadirle persulfato de potasio para una concentración final de 2.45 mM. Dejar reaccionar durante 12 – 16 h a temperatura ambiente y en oscuridad.

La dilución debe hacerse para obtener una absorbancia de 0.7 ± 0.02 a 734 nm.

3.4.2 Instrumentos

- Materiales de laboratorio
- Pipeta de 20ml
- Vaso de precipitado de 50ml, 100ml
- Etanol 96%
- Agua destilada
- Matraz 50ml , 100ml
- Fiola 50ml , 100ml

Reactivos:

- Solución H₂SO₄ QP.
- Sol. Alfa Naftol 2%
- Rvo. Antrona en H₂SO₄ al 2%
- Sol.FeCl₃ al 1%
- Rvo. Gelatina
- Solución HCL Concentrado
- Rvto. Bortranger (solución NaOH 5%)
- Rvo. Dragendorff
- Rvo. Mayer
- Rvo Fehling A + Fehling B
- Mg Metálico

- Rvo. DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo)
- Rvo. ABTS (Acido2, 2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6- sulfónico)
- Rvo. Trolox (Ácido-6-hidroxi-2, 5, 7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico)

Equipos

- Balanza Analítica
- Espectrofotómetro Uv/Visible
- Placa Calefactora
- Baño María
- Refrigeradora

Ficha de Cotejo de datos experimentales

CAPÍTULO IV

PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 Resultados:

4.1.1 Marcha fitoquímica de los extractos del Camu Camu

Los resultados obtenidos en la marcha fitoquímica de los extractos se presentan en la TABLA N°1

TABLA N°1

MARCHA FITOQUÍMICA DE LOS EXTRACTOS DEL FRUTO *Myrciaria dubia* CAMU CAMU

Reactivos	Metabolitos	Extracto Acuoso		Extracto Alcohólico	
		Cáscara	Pulpa	Cáscara	Pulpa
Molish	Carbohidratos	++	++	++	++
Fehling	Azúcares Reductores	++	++	++	++
Gelatina	Taninos	-	+	-	-
FeCl ₃	Compuestos fenólicos	+	++	++	++
Shinoda	Flavonoides	+++	+++	+++	+++
Dragendorff	Alcaloides	-	-	-	-
Mayer	Alcaloides	-	-	-	-
Antrona	Carbohidratos	++	++	+++	+++
Borntrager	Naftoquinonas, antronas y antranonas	-	-	-	-

Fuente: Elaboración propia

+++ = abundante ; ++ o + = poco o escaso ; - = ausencia

4.1.2 Capacidad antioxidante mediante la prueba de DPPH:

Los resultados obtenidos en el estudio de la capacidad antioxidante por el método DPPH de los extractos se presentan en la TABLA N°2

TABLA N°2

COMPARACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE IC50-DPPH Y TEAC-DPPH DE LAS MUESTRAS DE LOS EXTRACTOS DE PULPA Y CÁSCARA DEL FRUTO CAMU CAMU

	IC50 (mg/mL)				TEAC-DPPH	
	1° ensayo	2° ensayo	3° ensayo	promedio	DS	mg Trolox/mg extracto
Ext. Acuoso Pulpa	0.748	0.723	0.781	0.751	0.029	4.37
Ext. Alcohólico Pulpa	0.137	0.141	0.141	0.140	0.002	23.47
Ext. Acuoso Cáscara	0.272	0.264	0.294	0.277	0.016	11.85
Ext. Alcohólico Cáscara	0.1	0.094	0.104	0.099	0.005	32.99

Fuente: Elaboración propia.

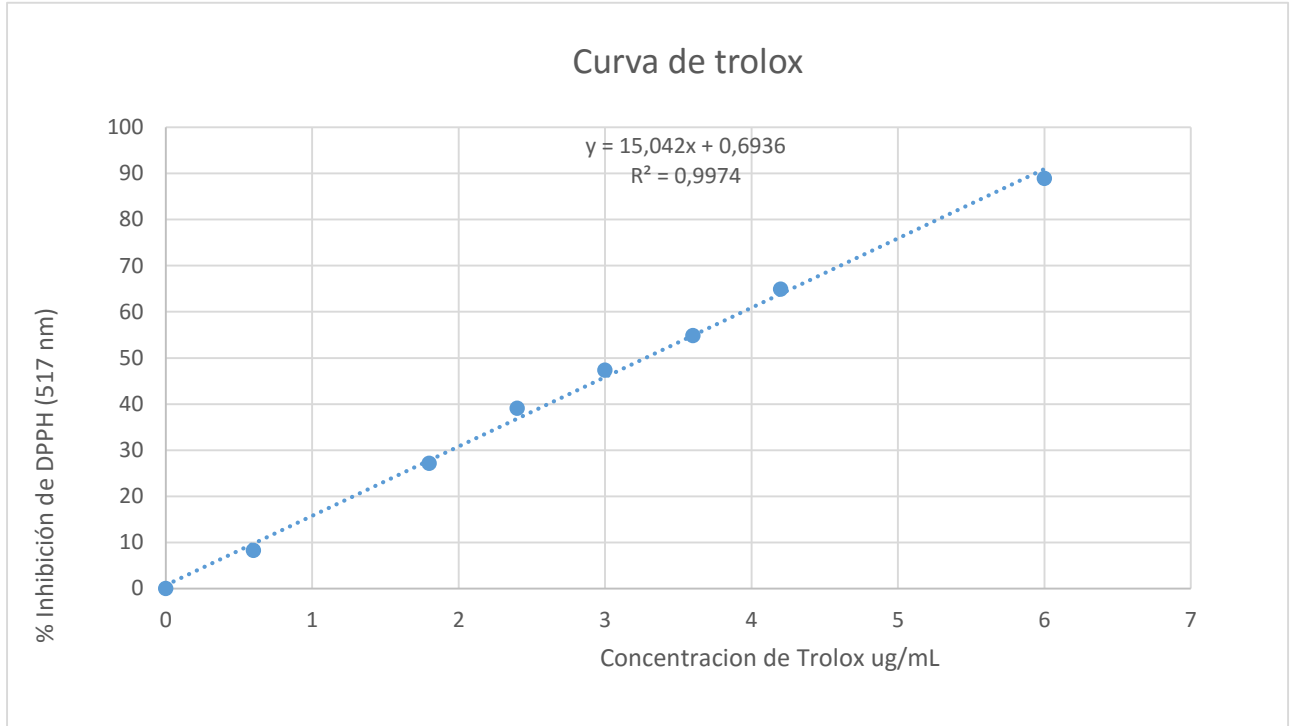
DS: Desviación estándar

IC50: Concentración inhibitoria del extracto que logra atrapar el 50% de los radicales libres DPPH

TEAC: Capacidad antioxidante equivalente a Trolox.

FIGURA N°7

CURVA DE CALIBRACION DEL TROLOX PARA EL ENSAYO DE DPPH



Fuente : Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición UNMSM

IC50 de trolox: 3,28 µg/MI

Como se puede observar los resultados confirman que los extractos analizados presentan actividad antioxidante, el extracto alcohólico de la cáscara del fruto Camu Camu tiene mayor actividad antioxidante con un valor IC50 de 0.099 (mg/ml), seguido del extracto alcohólico de la pulpa con un valor IC50 de 0.140 (mg/ml), mientras que los extractos acuosos presentan actividad antioxidante con valores ligeramente menores tales como el extracto acuoso de la cascara con un IC50 de 0.277 (mg/ml) y finalmente el extracto acuoso de la pulpa presentó un IC50 de 0.751(mg/ml).

El IC50 se interpreta como la concentración inhibitoria del extracto que logra atrapar el 50% de radicales libres, por lo tanto presenta una relación inversa

en cuanto a los valores numéricos obtenidos en los resultados, de tal forma que a menor valor corresponde una mayor capacidad antioxidante.

En el caso del TEAC-DPPH (Capacidad antioxidante equivalente a Trolox con DPPH), los mayores valores significan mejor capacidad equivalente expresado en Trolox. Luego el orden de ellos es el mismo que para los obtenidos con IC50.

4.1.3 Capacidad antioxidante mediante la prueba con ABTS⁺:

Los resultados obtenidos en el estudio de la capacidad antioxidante por el método ABTS de los extractos se presentan en la TABLA N°3.

TABLA N°3

COMPARACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE IC50-ABTS DE LAS MUESTRAS DE LOS EXTRACTOS DE CÁSCARA Y PULPA DEL FRUTO CAMU CAMU

	Ensayo con ABTS IC50 (mg/mL)
Ext. Acuoso Pulpa	0.572
Ext. Alcohólico Pulpa	0.101
Ext. Acuoso Cáscara	0.197
Ext. Alcohólico Cáscara	0.080

Fuente: Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición UNMSM

ABTS: Acido2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6- sulfónico)

Se puede observar que se confirma que los extractos acuosos y alcohólicos del fruto Camu Camu analizados presentan actividad antioxidante en un orden similar al observado con el método del DPPH.

El extracto alcohólico de la cáscara del fruto Camu Camu tiene mayor actividad antioxidante con un valor IC50 de 0.080 (mg/ml), seguido del extracto alcohólico de la pulpa con un valor IC50 de 0.101 (mg/ml), mientras que los extractos acuosos

presentan actividad antioxidante con valores ligeramente menores tales como el extracto acuoso de la cáscara con un IC50 de 0.197 (mg/ml) y finalmente el extracto acuoso de la pulpa presentó un IC50 de 0.572 (mg/ml).

El IC50 se interpreta como la concentración inhibitoria del extracto que logra atrapar el 50% de radicales libres, por lo tanto presenta una relación inversa en cuanto a los valores numéricos obtenidos en los resultados, de tal forma que a menor valor corresponde una mayor capacidad antioxidante.

Los análisis de la Capacidad antioxidante se realizaron en el Centro de Investigación Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

DISCUSIÓN

- En la marcha fitoquímica realizada en el presente trabajo de investigación a los extractos acuoso y alcohólico de la cáscara y pulpa del fruto maduro del Camu Camu se determinaron los siguientes metabolitos: en mayor concentración flavonoides ,resultados que coinciden con el trabajo realizado por Sotero V., Silva L., Garcia D., Iman S titulada “EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA PULPA, CÁSCARA Y SEMILLA DEL FRUTO DEL CAMU CAMU (*Myrciaria dubia* H.B.K.)”, quienes concluyeron que en el fruto Camu Camu se encuentran compuestos como ácido clorogénico, catequina, epicatequina y rutina , que son compuestos flavonoides; carbohidratos en concentraciones medias y azúcares reductores. Nuestros resultados son ratificados según la tesis de Sotomayor P, realizada en el año 2000, de título “INFLUENCIA DE LOS ENCAPSULANTES Y LAS TEMPERATURAS DE SECADO EN LA CALIDAD DEL CAMU CAMU (*Myrciaria dubia*) LIOFILIZADO”, en el cual menciona como resultados carbohidratos 80.42%, azúcares reductores 27.32%; compuestos fenólicos en concentraciones medias los cuales son ratificados en el trabajo de investigación realizado por Muñoz A., Ramos-Escudero F., Alvarado-Ortiz C., Castañeda B., Lizaraso , de título “EVALUACIÓN DE COMPUESTOS CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA EN CÁSCARA DE CAMU CAMU (*Myrciaria dubia*), GUINDA (*Prunus serotina*), TOMATE DE ÁRBOL (*Cyphomandra betacea*) Y CARAMBOLA (*Averrhoa carambola* L.) CULTIVADOS EN PERÚ”.
- Los resultados de la capacidad antioxidante IC50-DPPH (mg/ml) con las muestras de cáscara y pulpa en extracto acuoso y alcohólico del Camu Camu maduro obtuvieron los siguientes resultados: Ext. acuoso pulpa 0.751 ± 0.029 , Ext. acuoso cáscara 0.140 ± 0.002 , Ext. alcohólico pulpa 0.277 ± 0.016 y Ext. alcohólico cáscara 0.099 ± 0.005 ; en la investigación de Sotero V., Silva L., Garcia D., Iman S, en el año 2009, titulado “EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA PULPA, CÁSCARA Y SEMILLA DEL FRUTO DEL CAMU CAMU (*Myrciaria dubia* H.B.K.)”, obtuvieron los siguientes resultados en extracto metanólico en parte 10ug/ml convertido a mg/ml: pulpa 0.0845

± 0.001 y cáscara 0.1327 ± 0.027 , resultados que establecen que mayor capacidad antioxidante se presentan en extractos acuosos y alcohólicos.

- Los datos obtenidos en la comparación realizada de la capacidad antioxidante IC50-ABTS de las muestras de los extractos acuosos y alcohólicos de cáscara y pulpa del fruto Camu Camu (mg/ml) fueron : Ext. acuoso pulpa 0.572, Ext. alcohólico pulpa 0.101, Ext. acuoso cáscara 0.197 y Ext. alcohólico cáscara 0.080. Estos resultados se compararon con el trabajo realizado por los investigadores Villanueva-Tiburcio, J., Condezo-Hoyos, L, y Ramirez E, en la Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María, Perú; titulado “ANTOCIANINAS, ÁCIDO ASCÓRBICO, POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, EN LA CÁSCARA DE CAMU-CAMU (*Myrciaria dubia* (H.B.K) McVaugh)” en el año 2010. Los resultados que obtuvieron en base a IC50-ABTS en cáscara del fruto Camu Camu fueron los siguientes (mg/ml): Cáscara Maduro 0.03376 ± 0.00547 , Cáscara pintón 0.02025 ± 0.00019 y Cáscara verde 0.03254 ± 0.00134 . El extracto trabajado en la presente investigación fue realizado con frutos maduros, y se evidencia la actividad antioxidante en las muestras de Camu Camu.

CONCLUSIONES

- El extracto acuoso de la cáscara del fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu presenta actividad antioxidante con un IC50-DPPH (mg/ml) 0.277 ± 0.016 , IC50-ABTS (mg/ml) 0.197.
- El extracto acuoso de la pulpa del fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu presenta actividad antioxidante con un IC50-DPPH (mg/ml) 0.751 ± 0.029 , IC50-ABTS (mg/ml) 0.572.
- El extracto alcohólico de la cáscara del fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu presenta actividad antioxidante con un IC50-DPPH (mg/ml) 0.099 ± 0.005 , IC50-ABTS (mg/ml) 0.080.
- El extracto alcohólico de la pulpa del fruto de *Myrciaria dubia* Camu Camu presenta actividad antioxidante con un IC50-DPPH (mg/ml) 0.140 ± 0.002 , IC50-ABTS (mg/ml) 0.101.
- La mayor actividad antioxidante la presentó el extracto alcohólico de la cáscara del Camu Camu, seguido del extracto alcohólico de la pulpa, luego el extracto acuoso de la cáscara y finalmente el extracto acuoso de la pulpa.
- Los extractos acuosos y alcohólicos de la cáscara y pulpa del fruto Camu Camu, presentaron mayor capacidad antioxidante al ser comparadas con el patrón de referencia Trolox.

RECOMENDACIONES

- Continuar los estudios para la determinación de la capacidad antioxidante utilizando otros métodos y otros tipos de extractos del Camu Camu.
- Al realizar trabajos con extracto acuoso se debe almacenar en cadena de frío y/o trabajarlo de manera instantánea, ya que tiende a deteriorarse o a perder sus metabolitos.
- Seguir analizando el fruto del Camu Camu para ver que otros tipos de metabolitos puede contener y cuales son los beneficios para la salud.
- Difundir los resultados de la presente investigación para que la población conozca los beneficios del consumo cotidiano del Camu Camu.

FUENTES DE INFORMACION

- 1.- Villanueva-Tiburcio, J., Condezo-Hoyos, L., Asquiere, E. Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante, en la cascara de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) McVaugh). Tingo María. Cien.Tecnol.Aliment. 2010. vol.30 (1), Pags. 151 -160.
- 2.- Guija H., Troncoso L., Guija E. Propiedades prooxidantes del camu camu (*Myrciaria dubia*). Lima. Anales de la Facultad de Medicina. Universidad Nacional Mayor de San Marcos., 2005. 66 (4). Págs. 261-268; 262.
- 3.- Ramos E., Castañeda B., Ibáñez L. Evaluación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas. Lima. Revista de la Academia Peruana de Salud. 2008. 15 (1). Págs.42-46.
- 4.- Reátegui, R., Imán, S., Soplin, J. Influencia del genotipo y tipo de injerto en la brotación de *Myrciaria dubia* (h.b.k) *Mc Vaugh* "Camu". Iquitos. Ciencia Amazónica. 2012. Vol. 2, núm. 4 págs. 146-150.
- 5.- Sotomayor, P. Influencia de los Encapsulantes y las Temperaturas de Secado en la Calidad del Camu (*Myrciaria dubia*) Liofilizado. Universidad Nacional Agraria La Molina - UNALM. Facultad de Industrias Alimentarias.Lima Biblioteca Agrícola Nacional. Universidad Nacional Agraria La Molina – UNALM. 2000. Q02 / S66 – T. 149 p.
- 6.- Muñoz, A., Ramos-Escudero, F. Alvarado-Ortiz, C., Castañeda, B. Lizaraso, F. Evaluación de compuestos con actividad biológica en cáscara de Camu (*Myrciaria dubia*), Guinda (*Pronus serótina*), Tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) y Carambola (*Averrhoa carambola L.*) cultivadas en Perú. Lima. Rev.Soc.Quim.Peru. 2009, vol75, n.4, págs. 431-438.
- 7.- Ramos E., Castañeda B., Ibáñez L. Evaluación de la capacidad antioxidante de las plantas medicinales peruanas nativas e introducidas. Lima .Rev. Acad. Perú Salud 2008. 15(1) págs.42-46.

- 8.- SOTERO V., SILVA L., GARCIA D, IMAN S. Evaluación de la actividad antioxidante de la pulpa, cáscara y semilla del fruto del camu (*Myrciaria dubia* H.B.K.). Rev. Soc. Quím. Perú. 2009, vol.75, n.3 pp. 293-299.
- 9.- Iranzo, G., Milán, S .Inventores. Composiciones antioxidantes de un producto obtenido del fruto del camu. Oficina de patentes y marcas. España. *Spanish patent* ES 2 445 492.2. 2012.
- 10.- Quiñones M., Miguel M., Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. Departamento de Farmacología. Universidad Complutense de Madrid. España. Nutr Hosp. 2012; 27(1): pags.76-89.
- 11.- Kuskoski M, Asuero A, Troncosa A, Mancini-Filho J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciênc. Tecnol. Aliment* .Brasil. 2005, vol.25, n.4 [citado 18 de octubre del 2015], pp. 1- 726-732
- 12.- Pinedo, M; Linares, C. Plan de mejoramiento genético de Camu. Iquitos-Perú. 2004. Pag. 6
- 13.- Gutiérrez-Roseti A., Cornejo C. Uso sostenible de especies vegetales amazónicas de importancia económica: camu camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. McVaugh).Universidad Agraria La Molina. Lima. 2003. Pag.5.
- 14.- Vásquez A., Peters, C. Estudios ecológicos de camu camu (*Myrciaria dubia*) producción de frutos en poblaciones naturales. Folia Amazonica, Ucayali.1: 83 98.
- 15.- Rodríguez R., Marx F. Camu camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh]: a promising fruit from the Amazon basin.2006.Nutricion Pags. 376-381.
- 16.- Dostert N, Roque J, Brokamp G, Cano A, La Torre M, Weigend M. Desarrollo de monografías botánicas (factsheets) para cinco cultivos peruanos. Hojas Botánicas: Camu camu – *Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh. Museo de Historia Natural. Universidad Mayor de San Marcos. Lima Perú. 2009. Pag.3.

- 17.- Villachica, H. El cultivo del Camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. *McVaugh*) en la Amazonía Peruana. TCA / SPT. Perú. 2006 .Limo N° 46, Pág. 95.
- 18.- Iman S, Bravo L, Sotero V, Oliva C. Contenido de vitamina C en frutos de camu camu *Myrciaria dubia* (H.B.K) *Mc Vaugh*, en cuatro estados de maduración, procedentes de la Colección de Germoplasma del INIA Loreto, Perú. Facultad de ciencias Agropecuarias .Universidad de Trujillo. 2011.
- 19.- Federacion española del café .Antioxidantes y radicales libres. Citado 10 de octubre del 2015. Disponible en: <http://www.federacioncafe.com/>
- 20.- Montero M. Los radicales libres y las defensas antioxidantes. Revisión. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Santiago de Compostela. España .1996. Vol 75.N°4.
- 21.- Rivero A., Betancort J. Evaluación de la actividad antioxidante de polifenoles de algas marinas. 2006. Disponible en http://www.iupac.org/publications/cd/medicinal_chemistry/Practica-VI-3.pdf
- 22.- Agudo L. Técnicas para la determinación de compuestos antioxidantes en alimentos. Revista autodidacta. Sindicato ANPE Extremadura. España.2010. Pags.30-32.
- 23.- ¿Qué es el Trolox? (citado 1 de diciembre del 2015). Disponible en: <http://www.pronutrient.mx/que-es-trolox>

ANEXOS

FIGURA N°8

MARCHA FITOQUÍMICA DEL EXTRACTO ACUOSO DE LA CÁSCARA Y PULPA DEL FRUTO CAMU CAMU

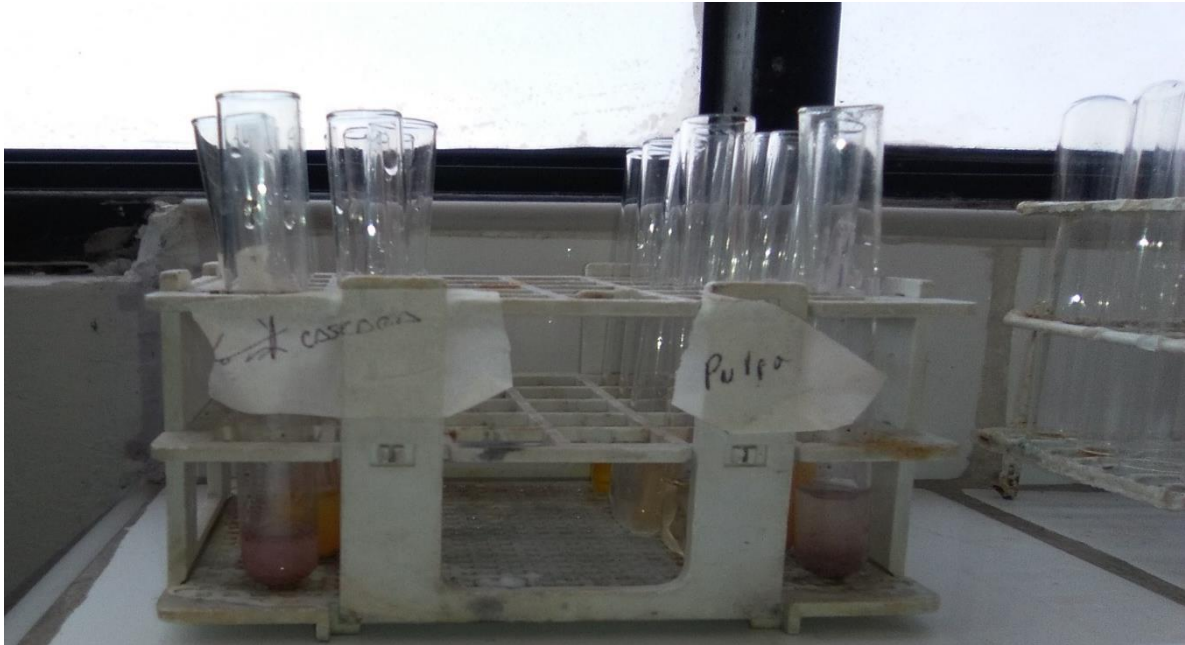
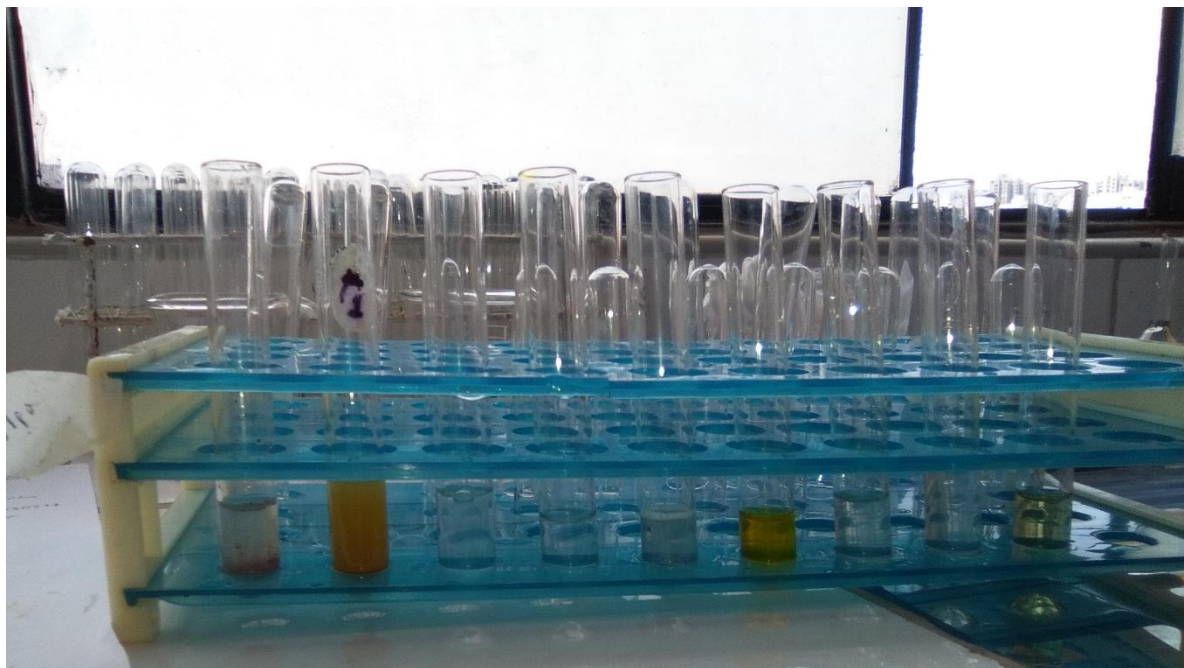


FIGURA N°9

MARCHA FITOQUÍMICA DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE LA CÁSCARA DEL FRUTO CAMU CAMU



FIGURA N°10: MARCHA FITOQUÍMICA DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE LA PULPA DEL FRUTO CAMU CAMU



ANEXO N°1: CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com

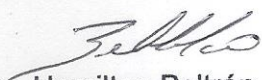
CERTIFICACION BOTANICA

El Biólogo colegiado y autorizado por el Inrena según RD. N° 334-2013-MINAGRI-DGFFS/DGEFFS, con Registro N° 37, certifica que la muestra botánica conocida como "CAMU CAMU" proporcionada por Bach.; ALTAMIRANO TINCOPA EDWAR ABRAHAM, Tesista de la Universidad Alas Peruanas, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Myrciaria dubia* y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Rosidae
Orden: Myrtales
Familia: Myrtaceae
Género: *Myrciaria*
Especie: *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh

Se expide la presente certificación a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Lima, 20 octubre 2015


Blgo. Hamilton Beltrán

Hamilton Wilmer Beltrán Santiago
Biologo - Botánico
CBP. 2719

ANEXO N°2: RESULTADOS EXTRACTOS DE CAMU CAMU



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE MEDICINA

Centro de Investigación Bioquímica y Nutrición

«Año de la diversificación productiva y del fortalecimiento de la educación»



RESULTADOS EXTRACTOS DE CAMU CAMU

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE MEDIANTE LA PRUEBA CON DPPH:

Fundamento: El 2,2 -difenilpicrilhidrazilo (DPPH) es un radical libre estable, presenta una coloración púrpura con absorbancia a 517 nm. Las sustancias atraparoras de radicales libres (donadoras de H) reaccionan con este compuesto y producen la desaparición del color. La lectura inicial del DPPH debe tener una absorbancia de 0.6 ± 0.02 .

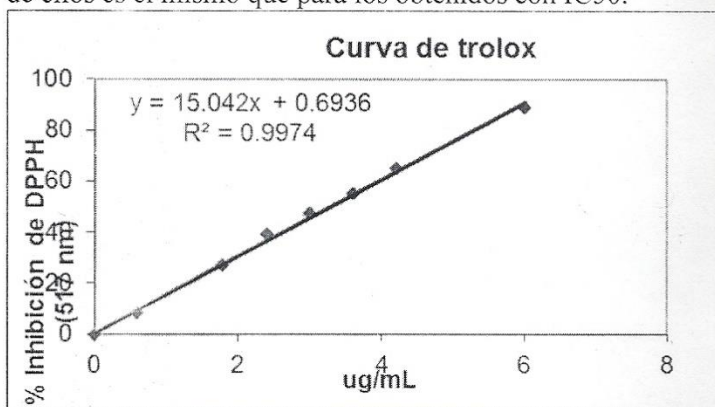
La reacción es seguida midiendo la disminución de la absorbancia a 517 nm.

Los resultados se pueden expresar como IC50, o capacidad antioxidante equivalentes a trolox (TEAC-DPPH)

	IC50 (mg/mL)					TEAC-DPPH µg Trolox/mg extracto
	1° ensayo	2° ensayo	3° ensayo	promedio	DS	
Pulpa acuoso	0.748	0.723	0.781	0.751	0.029	4.37
Pulpa etanol	0.137	0.141	0.141	0.140	0.002	23.47
Cáscara acuoso	0.272	0.264	0.294	0.277	0.016	11.85
Cáscara etanol	0.1	0.094	0.104	0.099	0.005	32.99

Comentario: cuanto menor es el valor del IC50, mejor capacidad antioxidante. Luego, la capacidad antioxidante de las muestras analizadas en orden descendente es: cáscara etanol, pulpa etanol, cáscara acuoso y el de menor es pulpa acuoso.

En el caso del TEAC-DPPH (Capacidad antioxidante equivalente a trolox con DPPH), los mayores valores significan mejor capacidad equivalente expresado en trolox. Luego el orden de ellos es el mismo que para los obtenidos con IC50.



IC50 de trolox: 3,28 µg/mL



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE MEDICINA

Mg. IVONNE SABEL BERNUI LEO
DIRECTORA
Centro de Investigación de Bioquímica
y Nutrición

MATRIZ DE CONSISTENCIA

Título del Proyecto de Tesis: "ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS ACUOSO Y ALCOHÓLICO DE LA CÁSCARA Y LA PULPA DEL FRUTO MYRCIARIA DUBIA CAMU CAMU"

Presentado por: ALTAMIRANO TINCA, Edwar Abraham

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACION	TIPO	POBLACION
<p>PROBLEMA GENERAL</p> <p>¿Presentará actividad antioxidante el extracto acuoso y el extracto alcohólico de la cáscara y la pulpa del fruto <i>Myrciaria dubia</i> camu camu?</p>	<p>OBJETIVO GENERAL</p> <p>Comprobar la actividad antioxidante de los extractos acuoso y alcohólico de la cáscara y la pulpa del fruto <i>Myrciaria dubia</i> camu camu.</p>	<p>HIPÓTESIS GENERAL</p> <p>Los extractos acuoso y alcohólico de la cáscara y pulpa del fruto <i>Myrciaria dubia</i> camu camu poseerán actividad antioxidante.</p>	<p>TIPO DE INVESTIGACIÓN:</p> <p>El presente trabajo de investigación es del tipo descriptivo-prospectivo pues se describirán los datos obtenidos y se realizarán las comparaciones respectivas.</p>	<p>MÉTODO DE INVESTIGACIÓN:</p> <p>Se utilizó el método inductivo, explicativo y de carácter transversal; ya que se efectuó en un periodo corto de tiempo, de junio – noviembre del 2015</p>	<p>VARIABLE INDEPENDIENTE (X)</p> <p>X: Extractos del Fruto de Camu Camu maduro</p> <p>Indicadores:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Componentes fitoquímicos
<p>PROBLEMAS SECUNDARIOS</p> <p>P.S.1 ¿Presentará actividad antioxidante el extracto acuoso de la cáscara del fruto de <i>Myrciaria dubia</i> Camu Camu?</p> <p>P.S.2 ¿Presentará actividad antioxidante el extracto acuoso de la pulpa del fruto de <i>Myrciaria dubia</i> Camu Camu?</p> <p>P.S.3 ¿Presentará actividad antioxidante el extracto alcohólico de la cáscara del fruto de <i>Myrciaria dubia</i> Camu Camu?</p> <p>P.S.4 ¿Presentará actividad antioxidante el extracto alcohólico de la pulpa del fruto de <i>Myrciaria dubia</i> Camu Camu?</p>	<p>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</p> <p>O.E.1: Comprobar la actividad antioxidante del extracto acuoso de la cáscara del fruto <i>Myrciaria dubia</i> camu camu.</p> <p>O.E.2: Comprobar la actividad antioxidante del extracto acuoso de la pulpa del fruto <i>Myrciaria dubia</i> camu camu.</p> <p>O.E.3: Comprobar la actividad antioxidante del extracto alcohólico de la cáscara del fruto <i>Myrciaria dubia</i> camu camu.</p> <p>O.E.4: Comprobar la actividad antioxidante del extracto alcohólico de la pulpa del fruto <i>Myrciaria dubia</i> camu camu.</p>	<p>HIPÓTESIS SECUNDARIAS</p> <p>H.S.1: El extracto acuoso de la cáscara del fruto <i>Myrciaria dubia</i> Camu Camu poseerá actividad antioxidante</p> <p>H.S.2: El extracto acuoso de la pulpa del fruto <i>Myrciaria dubia</i> Camu Camu poseerá actividad antioxidante</p> <p>H.S.3: El extracto alcohólico de la cáscara del fruto <i>Myrciaria dubia</i> camu camu poseerá actividad antioxidante</p> <p>H.S.4: El extracto alcohólico de la pulpa del fruto <i>Myrciaria dubia</i> camu camu poseerá actividad antioxidante</p>	<p>DISEÑO DE INVESTIGACIÓN:</p> <p>El diseño es experimental, ya que se analizaron los extractos acuosos y alcohólicos de las muestras del fruto tanto de la pulpa como de la cáscara, para comprobar su actividad antioxidante.</p>	<p>VARIABLE DEPENDIENTE (Y)</p> <p>Y: Compuestos Fenólicos</p> <p>Indicadores:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Capacidad antioxidante 	