

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

*Facultad de Ciencias Forestales*



**Determinación preliminar de  
metabolitos en hojas y corteza de Camu  
camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc  
Vaugh) en tres etapas fenológicas**

*Tesis para optar el Título de*  
**INGENIERO FORESTAL**

**Cecilia Inés Luque Portillo**

Lima – Perú  
2009

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos para calificar la sustentación del Trabajo de Tesis, presentado por la ex-alumna de la Facultad de Ciencias Forestales, Bach. **CECILIA INÉS LUQUE PORTILLO**, intitulado “**DETERMINACIÓN PRELIMINAR DE METABOLITOS EN HOJAS Y CORTEZA DE CAMU CAMU (MYRCIARIA DUBIA (H.B.K.) MC VAUGH) EN TRES ETAPAS FENOLÓGICAS**”.

Oídas las respuestas a las observaciones formuladas, lo declaramos:

.....

Con el calificativo de .....

En consecuencia queda en condición de ser considerada APTA y recibir el título de INGENIERO FORESTAL.

La Molina, 23 de julio de 2009

.....  
Ing. Florencio Trujillo Cuellar  
Presidente

.....  
Dr. Gilberto Domínguez Torrejón  
Miembro

.....  
Lic. Néstor Gomero Ostos  
Miembro

.....  
Dr. Héctor Enrique Gonzáles Mora  
Patrocinador

.....  
Ing.Sc Graciela Egoavil Cueva  
Co-patrocinadora

## *RESUMEN*

El Camu camu arbustivo (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh) es una promisorio planta nativa de nuestra Amazonía. Su alto contenido de ácido ascórbico despertó el interés de nacionales y extranjeros, lo que contribuyó a popularizar su cultivo en las zonas de restingas, principalmente en los departamentos de Loreto y Ucayali. La población local de estas zonas, sin embargo, empleaba al Camu camu desde antes, principalmente como alimento para los peces, pero también como medicina natural contra afecciones respiratorias y fracturas, entre otros.

Aunque por su alto contenido de vitamina C el Camu camu es objeto de una serie de investigaciones y proyectos, sobre todo en cuanto a su cultivo y mejoramiento de la producción del fruto, el aspecto medicinal de la planta ha estado siempre desatendido, lo que motivó la realización de la presente tesis de investigación, la cual, mediante el método de "Marcha Fitoquímica" llegó a identificar la presencia de siete grupos de metabolitos secundarios en las hojas y corteza de esta planta en sus tres etapas fenológicas (floración fructificación y dormancia, es decir sin flor ni fruto): flavonoides, quinonas, saponinas, lactonas sesquiterpénicas, compuestos grasos (aceites esenciales), taninos y azúcares reductores. Además, mediante un análisis espectral se identificaron tres importantes flavonoides, los cuales estarían relacionados con la acción terapéutica de estas partes de la planta: Quercetina (y su isómero, isoquercetina), kaemferol y genisteína. Siendo la quercetina constante en las tres etapas pero la de menor concentración (0.412 mg %), mientras que la genisteína fue la de mayor concentración (4.201 mg %) pero sólo se presentó en una muestra (hojas en floración).

Palabras clave: Camu camu, flavonoides, metabolitos secundarios, principios activos.

# ÍNDICE

Página

DEDICATORIA .....	III
AGRADECIMIENTOS .....	II
RESUMEN.....	III
ÍNDICE.....	1
LISTA DE CUADROS.....	3
LISTA DE FIGURAS .....	4
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>3</b>
2.1 ANÁLISIS DE LA PLANTA .....	3
2.1.1 Clasificación taxonómica.....	3
2.1.2 Descripción de la planta.....	3
2.1.3 Distribución natural .....	6
2.1.4 Plagas y enfermedades .....	8
2.1.5 Importancia de la especie .....	11
2.2 ANÁLISIS FITOQUÍMICO.....	13
2.2.1 Definición.....	13
2.2.2 Metabolitos celulares .....	14
2.2.3 Métodos de análisis fitoquímicos.....	21
2.2.4 Análisis fitoquímicos en myrtaceae.....	23
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>28</b>
3.1 LUGAR DE ESTUDIO.....	28
3.2 MATERIALES Y EQUIPOS .....	28
3.2.1 Materiales e insumos.....	28
3.2.2 Equipos .....	29
3.3 METODOLOGÍA .....	30
3.3.1 Obtención del Material biológico.....	30
3.3.2 Preparación de la muestra.....	32
3.3.3 Ensayos físicos.....	33
3.3.4 Tamizaje fitoquímico .....	34
3.3.5 Caracterización de metabolitos secundarios.....	36
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>38</b>
4.1 ENSAYOS DE HUMEDAD .....	38
4.2 ENSAYOS DE CENIZAS .....	39
4.3 PUNTOS TRASLUCIDOS .....	40
4.4 ENSAYO DE SOLUBILIDAD .....	42
4.5 TAMIZAJE FITOQUÍMICO .....	42
4.5.1 Alcaloides.....	44
4.5.2 Compuestos grasos (Reactivo Sudán).....	44
4.5.3 Quinonas (Bornträger).....	45
4.5.4 Saponinas.....	45
4.5.5 Taninos.....	45
4.5.6 Lactonas sesquiterpénicas .....	48
4.5.7 Azúcares y azúcares reductores.....	49

4.6	RENDIMIENTO DE ACEITES ESENCIALES .....	50
4.7	CARACTERIZACIÓN DE FLAVONOIDES .....	51
<b>5.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>53</b>
<b>6.</b>	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>54</b>
	<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>55</b>
	<b>ANEXO 1.....</b>	<b>60</b>
	SECUENCIA DE INVESTIGACIÓN FITOQUÍMICA.....	60
	<b>ANEXO 2.....</b>	<b>61</b>
	PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS A UTILIZAR EN EL TAMIZAJE FITOQUÍMICO.....	61
	<b>ANEXO 3.....</b>	<b>62</b>
	RESULTADOS DE LOS ENSAYOS DE HUMEDAD.....	62
	<b>ANEXO 4.....</b>	<b>63</b>
	RESULTADOS DE LOS ENSAYOS DE CENIZAS.....	63
	<b>ANEXO 5.....</b>	<b>65</b>
	RESULTADOS PORCENTAJE DE SÓLIDOS TOTALES .....	65
	<b>ANEXO 6.....</b>	<b>66</b>
	RESULTADOS DETALLADOS DEL TAMIZAJE FITOQUÍMICO .....	66
	<b>ANEXO 7.....</b>	<b>69</b>
	RENDIMIENTO DE ACEITES ESENCIALES .....	69
	<b>ANEXO 8.....</b>	<b>70</b>
	EJEMPLOS DE ESPECTRO OBTENIDOS CON EL ESPECTOFOTÓMETRO .....	70

## Lista de cuadros

Cuadro		Página
CUADRO 1.	CARACTERÍSTICAS DIFERENCIALES ENTRE <i>MYRCIARIA DUBIA</i> Y <i>MYRCIARIA SP.</i> .....	6
CUADRO 2.	PRINCIPALES PLAGAS POTENCIALES DEL CAMU CAMU.....	8
CUADRO 3.	FORMA DE USO DE <i>MYRCIARIA DUBIA</i> HBK EN JENARO HERRERA, TAHUAYO Y PUTUMAYO. ....	12
CUADRO 4.	ENSAYO FITOQUÍMICO AL AZAR DE LAS HOJAS DE GUAYABA ( <i>PSIDIUM GUAJAVA</i> ) .....	24
CUADRO 5.	TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LAS HOJAS DE <i>PSIDIUM GUINEENSE</i> .....	26
CUADRO 6.	TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE HOJAS Y TALLOS DE <i>EUGENIA ACRANTHA</i> .....	27
CUADRO 7.	FENOLOGÍA DEL CAMU CAMU ( <i>MYRCIARIA DUBIA</i> ) EN EL CASERÍO 7 DE JUNIO – PUCALLPA .....	31
CUADRO 8.	UBICACIÓN DE LA PARCELA DE CAMU CAMU ( <i>M. DUBIA</i> ) DE DONDE SE OBTUVIERON LAS MUESTRAS .....	31
CUADRO 9.	RESULTADOS DE CENIZAS EN HOJAS DE CAMU CAMU ( <i>M. DUBIA</i> ) .....	39
CUADRO 10.	RESULTADOS DE CENIZAS EN CORTEZA DE CAMU CAMU ( <i>M. DUBIA</i> ).....	40
CUADRO 11.	GRADO ALCOHÓLICO AL QUE SE OBTUVO MAYOR CANTIDAD DE SÓLIDOS TOTALES.....	42
CUADRO 12.	RESULTADOS DEL TAMIZAJE FITOQUÍMICO EN HOJAS Y CORTEZA DE CAMU CAMU ( <i>MYRCIARIA DUBIA</i> ). .....	43
CUADRO 13.	RESULTADOS DE ENSAYO $FeCl_3$ EN HOJAS Y CORTEZA DE CAMU CAMU ( <i>M. DUBIA</i> ) .....	46
CUADRO 14.	RESULTADOS DE LA PRUEBA SHINODA EN MUESTRAS DE HOJAS Y CORTEZA DE CAMU CAMU ( <i>MYRCIARIA DUBIA</i> ) .....	48
CUADRO 15.	FLAVONOIDES IDENTIFICADOS EN LAS HOJAS Y CORTEZA DE CAMU CAMU ( <i>M. DUBIA</i> ). .....	51

## Lista de figuras

Figura		Página
FIGURA 1.	EJEMPLAR TÍPICO DE <i>MYRCIARIA DUBIA</i> DE ZONA INUNDABLE .....	4
FIGURA 2.	DISTRIBUCIÓN DE LAS POBLACIONES NATURALES DE CAMU CAMU EN LA AMAZONÍA PERUANA .....	7
FIGURA 3.	ESTRUCTURA DE LA FLAVONA .....	16
FIGURA 4.	MOLÉCULA DE ISOPRENO .....	19
FIGURA 5.	ENSAYO HUMEDAD AZEOTRÓPICA CON TRAMPA DEAN STARK – $H_{FR}$ .....	33
FIGURA 6.	TUBO COLECTOR DE LA TRAMPA DEAN STARK CON CONTENIDO DE AGUA DE LA MUESTRA. ....	33
FIGURA 7.	DESTILACIÓN DE $H_{FR}$ UTILIZANDO EQUIPO CLEVANGER. ....	37
FIGURA 8.	COMPARACIÓN RESULTADOS HUMEDAD GRAVIMÉTRICA VS. HUMEDAD AZEOTRÓPICA .....	38
FIGURA 9.	COMPARACIÓN DE PUNTOS TRASLÚCIDOS/MM <sup>2</sup> EN TRES ESPECIES DE MYRTÁCEAS. ....	41
FIGURA 10.	RENDIMIENTO DE ACEITES ESENCIALES EN HOJAS DE CAMU CAMU ( <i>M. DUBIA</i> ) DE TRES ETAPAS FENOLÓGICAS DISTINTAS .....	50

## ***1. INTRODUCCIÓN***

Los bosques tropicales peruanos representan una amplia fuente de recursos naturales que cada determinado tiempo han ofrecido a la humanidad la oportunidad de desarrollar un recurso para el beneficio de todos. Así tenemos el caso de la cinchona (*Cinchona* sp.), el caucho (*Hevea brasiliensis*) y hoy en día también el “Camu camu” (*Myrciaria dubia* H.B.K. Mc Vaugh), una planta arbustiva perteneciente a la familia de las Myrtáceas.

El camu camu, al momento de su descubrimiento, era utilizado por las poblaciones locales como alimento para los peces, pero también en la elaboración de bebidas y licores, estos últimos no sólo de su fruto sino también de otras de sus partes, especialmente para la preparación de medicinas naturales.

Un estudio bromatológico de su fruto encontró que la pulpa poseía un alto contenido de ácido ascórbico, un excelente antioxidante natural, lo que propició que el camu camu se popularizara a nivel mundial y que el gobierno de turno promoviera su cultivo en la Amazonía Peruana. De esta manera, Loreto y Ucayali se convirtieron en los principales centros de investigación y reproducción de este fruto, en rodales naturales y plantaciones artificiales, respectivamente, siempre buscando mejorar su cultivo, manejo, adaptación a diferentes pisos ecológicos y de conseguir la mayor concentración de ácido ascórbico posible. El aspecto medicinal de la planta sin embargo, y a excepción del poder antioxidante de la pulpa, quedó siempre desatendido.

En aquellas zonas donde este fruto es cultivado, se sabe que las hojas son empleadas en la preparación de brebajes para contrarrestar los males respiratorios. Asimismo, su corteza es empleada en macerados y emplastos para curar las enfermedades respiratorias y las fracturas, respectivamente. Sin embargo, aquellos compuestos responsables de tales propiedades terapéuticas no han sido identificados aún.

Es sabido también que los principios activos de las plantas medicinales (conocidos también como metabolitos secundarios) suelen variar en concentración y presencia con los diferentes



estadios y periodos de las plantas, ya que estos compuestos no son esenciales para las mismas, mas sí le ayudan a adaptarse a diferentes situaciones de estrés o supervivencia.

En el camu camu se presentan tres estados fenológicos marcados: floración, fructificación y dormancia (sin flores ni frutos). Esta marcada fenología no permite a los productores obtener ingresos continuos por la venta del fruto, por lo que el resto del año deben buscar la manera de suplir esta carencia. A diferencia del fruto, las hojas y la corteza están presentes todo el año, y de encontrarse en ellas compuestos activos de importancia medicinal o industrial, el aprovechamiento de éstos permitiría hacer un uso más completo de la planta, permitiéndole a los agricultores mayores ganancias por ellas.

La presente investigación pretende por lo tanto, proporcionar un primer registro de metabolitos presentes tanto en las hojas como en la corteza del camu camu y determinar si es que éstos varían en sus tres etapas fenológicas, completando así la información ya existente sobre la planta, pudiéndose establecer “marcadores químicos” que ayuden a identificar la especie y sus variedades, así como su lugar de procedencia, en el futuro. Del mismo modo, permite dar un vistazo preliminar sobre los compuestos que le proporcionan a la planta sus propiedades curativas, los mismos que al tener cierta importancia para la industria farmacéutica y/o cosmética, le permitan a los productores dedicados al cultivo de esta especie aprovechar algo más que el fruto, que es estacional. De esta manera el camu camu se establece como una planta multipropósito que no sólo mantiene el suelo ocupado cuando el terreno está inundado, sino que además se puede obtener más de un producto beneficioso cuando esto ocurre.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 ANÁLISIS DE LA PLANTA

#### 2.1.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Myrtales

Familia: Myrtaceae

Género: Myrciaria

Especie: dubia

Nombre científico: *Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh

Nombre común: Camu camu

#### 2.1.2 DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA

Se conoce como camu camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. Mc Vaugh) al fruto de un arbusto nativo de la Amazonía. De acuerdo con Chávez (1993) y Villachica et al (1998) este arbusto puede llegar a medir entre cuatro a ocho metros de altura; se ramifica desde la base formando varios tallos secundarios que a su vez se ramifican en forma de vaso abierto. Su tallo y ramas son glabros, cilíndricos y lisos. Su fuste alcanza hasta 15 cm de diámetro; su corteza externa es de color pardo claro a pardo bronceado con ritidoma que se desprende como pequeñas placas

laminares; su corteza interna es lisa, de color gris o pardo verdoso. Sus raíces son profundas, cónicas y con muchos pelos absorbentes, pueden alcanzar 50 cm de longitud, aproximadamente. Sus hojas son simples, opuestas, enteras y sin estípulas, glabras en ambas caras, ovoides – elípticas hasta lanceoladas, de 3 a 12 cm de largo y de 1.5 a 4.5 cm de ancho; poseen un nervio medio en el haz y numerosos nervios secundarios (16 a 30); margen entero, ligeramente ondulado, ápice caudado acuminado, base obtusa a redondeada, haz verde oscuro ligeramente lustroso, envés verde claro y opaco, presenta abundantes puntos translúcidos, peciolo corto de 3 a 8 mm de largo y 1 mm de diámetro. Su inflorescencia es axilar, en forma de címulas paucifloras, con grupos de 1 a 12 flores subsésiles arregladas en pares, son blancas, glabras, bisexuales, con bracteas y bracteolas persistentes, cáliz con cuatro lóbulos ovoides, corola con cuatro pétalos, ovario ínfero y unos 1256 estambres. El fruto es una baya globosa, de superficie lisa y brillante, con puntos glandulares, de color rojo oscura hasta negro púrpura al madurar, de 2 a 4 cm de diámetro y peso variable entre 2 a 20 g. La pulpa es carnosa, ácida y de sabor y aroma agradables; presenta entre 1 a 4 semillas elípticas o reaniformes, conspicuamente aplanadas, siendo lo más común de dos a tres semillas; miden entre 8 a 15 mm de largo y 5.5 a 91 mm de ancho y están cubiertas por una malla de fibrillas blancas, ralas, de menos de 1 mm de longitud.



Figura 1. Ejemplar típico de *Myrciaria dubia* de zona inundable

Además del arbustivo, existe otro tipo de camu camu denominado “*camu camu arbóreo*” (*Myrciaria sp.*), pero que aún no es muy conocido ni ha sido tan estudiado como *M. dubia*. Brack (1999) describe dos especies de camu camu arbóreo:

- *Myrciaria floribunda*: árbol de hasta 30 – 40 m de altura, fruto en baya color morado a marrón, de cáscara semileñosa, pulpa rosada y una a dos semillas. El fruto es más pequeño que el de *M. dubia*.
- *Myrciaria cauliflora*: árbol entre 6 – 13 m de alto; inflorescencias caulifloras, de flores blancas y frutos en bayas, esféricos, rojizos a negros cuando maduros, pulpa blanca, ácida, con una a dos semillas.

Vásquez, citado por Pinedo *et al* (2004), describe una tercera especie de camu camu arbóreo:

- *Myrciaria amazonica* (Camu camu de altura): árbol de hasta 24 m de altura, frutos tipo baya de 1.5 – 2 cm de diámetro, con coloración negra al madurar.

Algunas características diferenciales entre camu camu arbustivo y arbóreo se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Características diferenciales entre *Myrciaria dubia* y *Myrciaria sp.*

Característica	<i>Myrciaria dubia</i>	<i>Myrciaria sp</i>
Porte	Arbusto	Árbol
Diámetro tronco	Hasta 15 cm.	Hasta 50 cm.
Corteza	Rojiza, se desprende en grandes placas	Rojiza, lisa
Ramificación	Copa baja, globosa, densa	Copa muy alta
Fruto	2 – 4 cm. Diámetro	2 cm. diámetro aprox.
Contenido ácido ascórbico	Mayor	Menor
Contenido ácido cítrico	Menor	Mayor
Época de cosecha	Diciembre – marzo	Marzo – mayo
Peso de fruto	10 – 20 g	23 – 40 g
Color de fruto	Rojo intenso a morado	Morado a marrón
Cáscara del fruto	Apergaminada	Semileñosa
Color de semilla	Amarillenta	Rosada
Tamaño de semilla	Generalmente grande	Pequeña y pilosa
Forma de semilla	Chata, reniforme	Ovalada, dura
Semillas por fruto	1 a 4	1 a 2

Fuente: Villachica, H. (1996)

### 2.1.3 DISTRIBUCIÓN NATURAL

El camu camu, ya sea arbóreo o arbustivo, se encuentra disperso en toda la cuenca del Amazonas y sus afluentes, encontrándose poblaciones en los países de Perú, Brasil, Colombia y Venezuela, aunque las poblaciones más densas se localizan en la región peruana. (Vásquez, 2000)

En el Perú, las poblaciones de camu camu se encuentran en los departamentos de Loreto y Ucayali, a lo largo de las cuencas de los ríos Nanay, Napo, Ucayali, Marañón, Samiria, Pacaya, Tigre, Tapiche, Yarapa, Tahuayo, Pintuyacu, Itaya, Ampiyacu, Maniti, Oroza, Putumayo, Yavari, Curaray y Apayacu. (Pinedo *et al.* 2004)

La mayoría de rodales naturales de camu camu (*M. dubia*) se localizan en el departamento de Loreto, creyéndose como su centro de origen los lagos Sahuá y Supay, afluentes del río Ucayali y en donde se han encontrado las poblaciones más densas de esta especie. (Villachica *et al.* 1998 y Vásquez 2000). En cuanto al camu camu arbóreo, sus poblaciones naturales son más abundantes en el departamento de Ucayali, aunque también se encuentra disperso en toda la



De acuerdo con Villachica *et al* (1998), el hábitat para *M. dubia* son las orillas de los ríos y lagos de aguas negras de la Amazonía, debido a su alto contenido de materia orgánica y en donde, según Vásquez (2000), se le puede encontrar compitiendo con otras especies de la familia Myrtaceae como *Eugenia stipitata* (Arazá) y *Psidium* spp. (varias especies de guayaba) y de la familia Arecaceae. En tanto, el camu camu arbóreo, como indican Villachica *et al* (1998) y Pinedo *et al* (2004), habita los bosques primarios y los bosques inundables, y casi siempre se le encuentra disperso como ya se indicó anteriormente.

## 2.1.4 PLAGAS Y ENFERMEDADES

### 2.1.4. A) PLAGAS

Delgado y Couturier (2004) han logrado identificar alrededor de 48 plagas para el camu camu (*Myrciaria dubia*); sin embargo, no todas ocasionan un gran daño a la producción o a la planta en sí. Las plagas más importantes halladas en camu camu se indican en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Principales plagas potenciales del Camu camu

Nombre común	Nombre científico	Localización
Pulgón verde del algodón	<i>Aphis gossypii</i>	Brotos y hojas
Queresa roja del Camu camu	<i>Austrotachardiella sexcordata</i>	Ramas
Queresa amarilla del Camu camu	<i>Ceroplastes flosculoides</i>	Ramas
Picudo del Camu camu	<i>Cenotrachelus dubiae</i>	Semillas
Mosquita de la agalla del Camu camu	<i>Dasineura</i> sp.	Hojas
Queresa de la piña	<i>Dysmicoccus brevipes</i>	Hojas, ramas, cuello
Serruchador	<i>Ecthoea quadricornis</i>	Ramas
Picudo de las ramas	<i>Laemosaccus ebenus</i> .	Ramas
Polilla nocturna (plaga de guayaba)	<i>Mimallo amilia</i>	Hojas
Queresa negra del chirimoyo	<i>Parasaissetia nigra</i>	Ramas, hojas
Polilla nocturna	<i>Trogoptera erosa</i>	Hojas
Piojo saltador	<i>Tuthillia cognata</i>	Brotos, envés hojas jóvenes
Barrenador de las ramitas del café	<i>Xylosandrus compactus</i>	Tallo
Chinche del Camu camu	<i>Edessa</i> sp.	Brotos, frutos
Palito o Palito viviente saltador	<i>Apioscelis bulbosa</i>	Hojas

FUENTE: Villachica, H. (1996)

Existen otras plagas que si bien no afectan la producción pueden ocasionar significativos daños a las hojas o la corteza, material de estudio de la presente Tesis. Algunas de estas plagas son: Barrenador de ramas y tronco (*Timocratica olbella*), Gusano leñador (*Mimillo amilia*), Gusano dragón (*Nystalea nyseus*), Gusano cesto (*Naevipenna sp.*, *Oiketicus sp.*), Oruga zebra de las ramas (*Lossula maruga*) Pulgón verde del algodónero (*Aphis gossypii*), hormigas cortadoras (*Atta sexdens*), Mosca blanca (*Aleurothrixus floccosus*) y Mosca de la fruta (*Anastrepha sp.*). (Delgado y Couturier 2004)

#### 2.1.4. B) ENFERMEDADES

De acuerdo con Villachica (1996), las enfermedades registradas para *Myrciaria dubia* no han sido debidamente estudiadas puesto que en las zonas de restinga éstas suelen presentarse en baja proporción. De acuerdo con el autor “la relativa alta fertilidad de los suelos y la inundación prolongada constituyen agentes supresores de la proliferación de patógenos”. Sin embargo, en plantaciones de monocultivos siempre existe el riesgo de contagio. El Ing. Pablo Villegas, productor de camu camu (*M. dubia*) del caserío 7 de Junio de Yarinacocha, en Ucayali, señaló las siguientes enfermedades y patógenos que presenta su plantación:

##### 2.1.4.B. a) *Necrosis radicular (Fusarium sp.)*

El daño causado por este patógeno consiste en el ennegrecimiento de las raicillas, las que toman una consistencia húmeda y de fácil desprendimiento. A su vez, las hojas se tornan amarillentas, se marchitan y mueren. Se controla mediante la eliminación de las plantas afectadas. (IIAP 2001).

##### 2.1.4.B. b) *Antracnosis de hojas y frutas (Colletotrichum sp.)*

El daño comienza por la formación de pequeños puntos rojizos, tanto en hojas como en el fruto. En las hojas estos pequeños puntos van avanzando por su superficie en forma de halos amarillentos que luego forman manchas más grandes de color rojizo que cubren gran parte de la superficie foliar. En los frutos, los pequeños frutos se oscurecen y crecen hasta alcanzar aproximadamente 1 cm de diámetro, cambiando a una coloración marrón claro o pajizo. También puede ocurrir la rajadura del fruto, permitiendo la entrada a otros patógenos o plagas.



Su control también consiste en la eliminación de las partes afectadas. (IIAP 2001).

#### 2.1.4.B. c) *Manchas foliares*

Cuando el daño es ocasionado por *Pestalotia* sp. aparecen manchas de color marrón sobre las hojas y ramas (Rashed s.f.). Si el daño es originado por *Marssonina* sp., aparecen pequeñas manchas irregulares de color marrón o negro, con o sin el centro blanco, en las hojas y ramitas de la planta. En estas últimas, algunas veces las manchas se agrupan para formar largas lesiones que pueden rodear y matar las ramas. Este patógeno se controla eliminando las ramas y hojas muertas o enfermas, luego de lo cual se debe desinfectar las herramientas utilizadas. (Pscheidt 2009).

#### 2.1.4.B. d) *Muerte regresiva (Botryodiplodia theobromae)*

Este patógeno ocasiona el secamiento de la planta desde la parte apical hacia abajo. Las lesiones son de color castaño al inicio, luego marrón y finalmente blanco grisáceas. Su control consiste en la eliminación de las plantas afectadas, o podando las ramas debajo de las zonas dañadas, curando luego el corte con pasta bordaleza. (IIAP 2001)

#### 2.1.4.B. e) *Fumagina (Fumago sp.)*

- El daño consiste en la distribución no uniforme de una cubierta oscura sobre las hojas, disminuyendo así su capacidad fotosintética. De acuerdo con Villachica (1996), su aparición es consecuencia del ataque de queresas, que suelen presentarse en mayor cantidad durante la época seca. Se controla eliminando las queresas mas no se deben usar fungicidas. (IIAP 2001).

#### 2.1.4. C) *POLINIZADORES*

Villachica (1996) indica que además del viento, los polinizadores más importantes para camu camu son unas pequeñas abejas identificadas por Peters y Vásquez (1986) llamadas *Melipona fuscopilana* y *Trigona portica*.

### 2.1.5 IMPORTANCIA DE LA ESPECIE

La importancia del camu camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. Mc Vaugh) radica en el gran potencial agroindustrial que representa. Si bien su parte más estudiada hasta hoy es el fruto y es en donde radica su mayor atractivo (el alto contenido de ácido ascórbico de su pulpa), el camu camu ha venido siendo utilizado de diversas formas por las poblaciones ribereñas y es a partir de estos usos que se puede inferir su importancia para la agroindustria y para el desarrollo de la región amazónica, ya sea en la medicina, en la cosmética, en la industria de los alimentos o para otros usos. (GTZ 2000).

Flores (1997) destaca algunos usos importantes para el camu camu como tinte y como medicina: “Tanto los frutos como la corteza son usados para teñir fibras vegetales; los vapores del raspado de la corteza hervida sirven contra dolores musculares; las hojas trituradas sumergidas en agua, para remojar la cabeza o como bebida contra la fiebre, el dolor de cabeza y la calentura interna.”

Brack (1999) también señala algunas de sus propiedades medicinales:

- Como antigripal: frutos licuados con agua.
- Como laxante: jugo de los frutos mezclado con agua.
- Para malestares gastro-intestinales: jugo fresco de frutos maduros.
- Contra el reumatismo: el cocimiento de corteza y frutos verdes macerado en aguardiente.
- Para las heridas: Emplasto de la corteza machacada.

Vásquez (2000) también indica algunas propiedades curativas: “Su corteza y su tallo consumidos en infusión son un excelente remedio contra la diabetes; su cáscara al estado maduro tiene buena concentración de antocianinas, ideal para la fabricación de antioxidantes.”

De acuerdo con una publicación del IIAP (2001) se considera que el camu camu es útil para el tratamiento de herpes, dolores de cabeza, migraña, cálculos de la vesícula y especialmente resfríos y gripes severas. En el Cuadro 3 se detallan algunos usos tradicionales para el camu camu (*M. dubia*) por parte de las poblaciones aledañas de Jenaro Herrera.

Cuadro 3. Forma de uso de *Myrciaria dubia* HBK en Jenaro Herrera, Tahuayo y Putumayo.

Parte de la Planta	Forma de uso
Fruto	Sustituto del limón
	Carnada para pescar
	Licor
	Medicina
	Refresco
	Helado
	Cremolada
Corteza	Tintorea
	Licor y cocimiento medicinal
Hojas	Medicina
Raíces	Licor y cocimiento medicinal
Madera	Leña y construcciones rústicas

FUENTE: Manual Técnico: Sistema de producción de camu camu en restinga, IIAP (2000).

Se sabe que a nivel local, la pulpa del fruto se consume y utiliza en la elaboración de diversos productos tales como: jugos, néctares, vinos, macerados, bebidas, mermeladas, helados, etc; mientras que a nivel internacional, el valor que se le da a la pulpa es más interesante. Si bien es cierto que también se le consume en la forma de de los diferentes productos arriba mencionados, países como Japón y Estados Unidos, principales destinos de la pulpa congelada y liofilizada, lo demandan por su alto contenido de ácido ascórbico para la elaboración de tabletas de Vitamina C natural. La función antioxidante de la Vitamina C y la creciente demanda por productos de origen natural, especialmente de los provenientes de la Amazonía, incrementan la importancia de este fruto en estos mercados, para los cuales la oferta nacional actual no es suficiente. (Villachica 1996).

Otra rama de la industria donde el camu camu también puede representar una opción interesante es el campo de la cosmética. La publicación del IIAP (2001) señala que el alto

contenido de Vitamina C del camu camu –debido a su acción antioxidante- también puede aprovecharse para la elaboración de cremas, máscaras capilares, bálsamos y champús. Este tipo de productos ya se vienen elaborando en países como Brasil y Japón, y dada nuestra mejor calidad de fruto y mayor densidad de poblaciones, es una importante opción que el Perú debería comenzar a desarrollar y aprovechar.

Como se ve, el camu camu es un fruto potencial para desarrollar la agroindustria en la amazonía peruana. Aunque su parte más estudiada es el fruto, otras de sus partes también pueden representar opciones interesantes de desarrollo económico, convirtiéndose además en una planta multiuso y en un elemento de importancia para la investigación científica, rompiéndose la fuerte dependencia entre los ingresos económicos para el agricultor con la época de cosecha, y, tal como señala Vásquez (2000): “*Es la primera especie nativa de importancia económica que mantiene ocupado el suelo mientras el agua lo cubre.*”

## **2.2 ANÁLISIS FITOQUÍMICO**

### **2.2.1 DEFINICIÓN**

García (2006) señala que la palabra *fitoquímica* proviene del griego *Phyton-planta* es decir “*química de las plantas*”; por tal razón, Valencia (1995) la define como “*el estudio de los constituyentes químicos de las plantas*” y dicho estudio, tal como señala también García (2006), abarca la biosíntesis, metabolismo, distribución natural, función biológica, aislamiento, purificación y determinación de la estructura química de tales compuestos.

Cabe resaltar que autores como Domínguez (1973), Lock (1988) y Valencia (1995) señalan que no existe un esquema definido para la realización de un análisis fitoquímico y que cada estudiante, profesor o investigador, debe utilizar todas las herramientas y esquemas a su alcance y realizar su propia secuencia de investigación con la que se sienta más cómodo de trabajar.

## 2.2.2 METABOLITOS CELULARES

Son todos aquellos que le permiten realizar a las células sus diferentes funciones. Están divididos en dos de acuerdo a su importancia para el metabolismo celular: Metabolitos primarios y metabolitos secundarios.

### 2.2.2. A) METABOLITOS PRIMARIOS

García (2006) los describe como “*los compuestos básicos para el metabolismo de la célula*” y también indica que como los procesos metabólicos son uniformes a todos los vegetales, así también lo serán este tipo de metabolitos. Esta afirmación queda confirmada con lo expresado por Lock (1988) y Valencia (1995), quienes describen a los metabolitos primarios como “*sustancias inertes universalmente distribuidas, que participan en la actividad celular de todo ser viviente*”. Valencia (1995) afirma además que tales sustancias “*no tienen ninguna actividad farmacológica definida*”. Estos metabolitos están constituidos por:

- Lípidos.
- Ácidos carboxílicos del ciclo del ácido cítrico.
- Aminoácidos
- Azúcares comunes y derivados.
- Polímeros de carbohidratos (celulosa, almidón).
- ATP y DPN.
- Materias colorantes.

### 2.2.2. B) METABOLITOS SECUNDARIOS

Lock (1988) los describe como “*compuestos químicos de estructura relativamente compleja y de distribución más restringida y característica a cada planta*”. Estos compuestos, de acuerdo

con Lock (1988), Valencia (1995) y García (2006), no son indispensables para el funcionamiento celular de las plantas y, generalmente, son éstos los responsables de la acción terapéutica de las mismas. Lock (1988) los denomina por ello *artículos de lujo de la planta* y Valencia (1995) agrega que dichos productos “*no son finales ya que posteriormente pueden sufrir más cambios*”.

Su presencia o ausencia en la planta está determinada por varios factores: el suelo, las condiciones climáticas, la estación, el momento del día, etc. De acuerdo con la OMS (1998) “*a finales del período vegetativo y antes del período de floración ocurre la mayor concentración de principios activos*”; y García (2006) añade que el mejor momento para la recolección de muestras es por las tardes o las noches, pues a estas horas la planta ya ha realizado sus procesos metabólicos básicos y puede dedicarse a producir sus “*compuestos de lujo*” o metabolitos secundarios.

Si bien estos metabolitos no son esenciales para el funcionamiento celular, sí cumplen otras funciones específicas para cada planta donde se presentan: como mecanismos de defensa, como agentes polinizadores, como sustancias de reserva, como cicatrizantes para sus propias heridas, etc.

Algunos de estos metabolitos, con reconocida acción terapéutica son: alcaloides, terpenos y terpenoides, saponinas, quinonas y otros compuestos fenólicos, etc. A continuación se describirán algunos de estos compuestos considerados para la presente investigación.

#### 2.2.2.B. a) Compuestos fenólicos:

De acuerdo con Lock (1988), son todos aquellos compuestos “que poseen en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos y que suelen encontrarse frecuentemente como glicósidos combinados con unidades de azúcar”. Valencia (1995) indica además que por lo general, estos compuestos suelen alojarse en las vacuolas de las plantas. Ambos autores mencionan entre los compuestos fenólicos a los flavonoides, los taninos, las quinonas, cumarinas, entre otros.

### 2.2.2.B.a.1 FLAVONOIDES

Diversos autores como Domínguez (1973), Bruneton (2001), Vit (1993) y Valencia (1995) señalan que los flavonoides son sustancias cuyas estructuras derivan del núcleo *2-fenil-bezo-pirona*, conocido también como *flavona* (Figura 3). Su esqueleto carbonado tiene la forma C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> y de acuerdo con el nivel de oxidación del anillo central de pirano se pueden dividir en varias clases, siendo las más importantes los flavonoles (como la quercetina) y las antocianidinas (como la cianidina) (Valencia 1995).

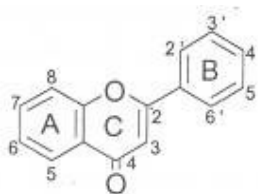


Figura 3. Estructura de la Flavona  
FUENTE: Patricia Vit (1993)

Están ampliamente distribuidos en las plantas, ya sean libres o como glicósidos (Domínguez 1973 y Valencia 1995), en el mesófilo y epidermis de las hojas, en la cutícula epidérmica de los frutos y en otros órganos, siendo más abundantes en órganos jóvenes (Bruneton 2001).

En las plantas cumplen la función de pigmentación de hojas, flores y frutos (Domínguez 1973 y Valencia 1995), ya sea para atraer insectos polinizadores o dispersores de semillas, pero Valencia (1995) señala además otras funciones importantes para la medicina, tales como: son potentes inhibidores de algunos sistemas enzimáticos, tienen una función protectora y de resistencia contra las enfermedades, pueden servir como marcadores químicos en los estudios biosintéticos y de distribución taxonómica de las plantas superiores, etc.

### 2.2.2.B.a.2 TANINOS

Bruneton (2001) define a los taninos como “compuestos fenólicos hidrosolubles con un peso molecular entre 500 – 3000, que presentan la propiedad de precipitar alcaloides, gelatina y otras proteínas”. Los clasifica en dos grupos:

- T. condensados (proantocianidoles): Polímeros de unidades flavánicas, la mayoría de las veces ligadas entre ellas por enlaces C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub>. Son resistentes a la hidrólisis.
- T. hidrolizables: Son ésteres de la glucosa (o de compuestos semejantes) y de ácidos fenóles: ácido gálico (T. gálicos) o ácido hexahidroxidiférico y sus derivados (T. elágicos).

De acuerdo con Valencia (1995) “cuando los taninos se encuentran en cantidades considerables, se localizan en partes específicas de las plantas como hojas, corteza, frutos o tallos (...) y normalmente desaparecen durante el proceso de maduración (...) o son depositados como producto final del metabolismo en tejidos muertos de la planta adulta”. Al igual que el resto de los metabolitos secundarios, no se sabe con exactitud cuál es su función dentro de la planta. Valencia (1995) señala que la energía producida por la oxidación de estos taninos es utilizada para realizar sus procesos metabólicos. También que por tener acción antiséptica las previenen del daño causado por insectos y hongos.

Bruneton (2001) indica que no se dispone de estudios químicos que demuestren la acción terapéutica de los taninos en la salud humana, pero que sin embargo se siguen aplicando, sobre todo en fitoterapia. Esto se debe a tres características: su actividad astringente, su actividad antioxidante y su actividad inhibidora de enzimas. También atribuye sus propiedades biológicas “*al poder que poseen de formar complejos con otras macromoléculas*”, sobre todo con proteínas.

#### 2.2.2.B.a.3 QUINONAS

Bruneton (2001) describe a las quinonas como “compuestos oxigenados que corresponden a la oxidación de derivados aromáticos”; el mismo autor también señala que “también puede encontrarse el agrupamiento quinónico en diferentes tipos de metabolitos secundarios”, como por ejemplo flavonoide-quinonas. Valencia (1995) agrega que las quinonas se encuentran en la planta ya sea de forma libre, o combinadas con azúcares formando glicósidos. Este autor divide a las quinonas en cuatro grupos de acuerdo con su estructura: benzoquinonas, naftaquinonas, antraquinonas e isoprenoquinonas. Los tres primeros son compuestos hidroxilados con propiedades fenólicas.



Respecto a su función en las plantas, García (2006) señala que “colaboran con la pigmentación de muchas plantas y animales” y que “debido al equilibrio quinona-hidroquinona, las quinonas regulan los procesos de oxidación-reducción” considerándose algunas de sus estructuras como coenzimas. Además, varios autores indican que su acción en el cuerpo humano es del tipo purgante.

#### 2.2.2.B. b) Saponinas

Según Domínguez (1973) la palabra *saponina* proviene del latín “*sapon*” que significa “*jabón*”, ya que estas moléculas tienen la propiedad de producir una espuma jabonosa al agitarse con agua, propiedad que se utiliza para su identificación en un extracto vegetal.

Valencia las describe como “*glicósidos de alcoholes tanto triterpenoides como esteroides, con una cadena lateral espiroacetal*”; en tanto Lock (1988) indica que las saponinas triterpenoides están ampliamente distribuidas en el reino vegetal, difiriendo entre ellas por el número y tipo de unidades de azúcar unidas a su respectiva “*sapogenina*”. Tanto Lock (1988) como Valencia (1995) coinciden en que su importancia radica en su utilización como materia prima para la elaboración de hormonas, principalmente aquellas saponinas esteroidales.

#### 2.2.2.B. c) Terpenos

De acuerdo con García (2006), son la base estructural de los aceites esenciales (casi 80% de ellos poseen bases terpénicas). Su unidad básica es el “*isopreno*” (Figura 4), unidad insaturada de cinco átomos de carbono. A partir de ella se pueden producir una serie de agrupamientos y reordenamientos estructurales que le proporcionarán a la nueva molécula una propiedad determinada<sup>1</sup>:

- Monoterpenos (C<sub>10</sub>): Constituyentes volátiles de los aceites esenciales.
- Sesquiterpenos (C<sub>15</sub>): Componentes de mayor punto de ebullición de los aceites esenciales.
- Diterpenos (C<sub>20</sub>): Resinas ácidas, agentes antitumorales.

- Triterpenos (C<sub>30</sub>): Esteroides, saponinas
- Carotenos (C<sub>40</sub>): Phytoenos, pigmentos
- Dollchols (C<sub>85</sub>-C<sub>110</sub>): Gomas, “hule”.

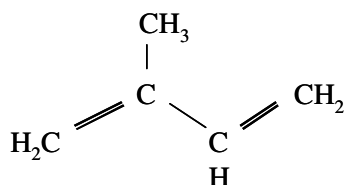


Figura 4. Molécula de isopreno  
FUENTE: Olga Lock (1988)

#### 2.2.2.B.c.1 ACEITES ESENCIALES

Lock (1988) denomina así a los “*constituyentes odoríferos de una planta*”. De acuerdo con la autora, los aceites esenciales están conformados químicamente por la mayoría de monoterpenos y algunos sesquiterpenos y componentes aromáticos. Según Valencia (1995) los monoterpenos tienen un punto de ebullición entre 140-180 (°C), derivan de dos moléculas de isopreno y se dividen en tres grupos: acíclicos (como el geraniol), monocíclicos (como el limoneno) y bicíclicos (como el  $\alpha$  y  $\beta$  pineno), pudiendo ser en cada caso hidrocarburos, alcoholes, aldehídos o cetonas. Los sesquiterpenos tienen un punto de ebullición superior a los 200 °C, su fórmula general es C<sub>15</sub>H<sub>24</sub> y derivan de tres moléculas de isopreno; son compuestos no saturados y a diferencia de los monoterpenos se dividen en cuatro grupos: acíclicos, monocíclicos, bicíclicos y tricíclicos.

Los aceites esenciales pueden localizarse en cualquier órgano o en toda la planta, y la composición de éstos en cada órgano puede ser la misma o diferente, pudiendo también variar con la época de recolección, el lugar geográfico o pequeños cambios genéticos. (Domínguez, 1973). Este autor también señala que el rendimiento de aceite dentro de la planta puede variar de unas cuantas milésimas hasta 1 – 3 % del peso vegetal.

<sup>1</sup> Valencia (1995), García (2006)

Dentro de la planta, los aceites esenciales cumplen una serie de funciones, tal como indica Bruneton (2001): elementos de comunicación química en la polinización y dispersión de diasporas, medios de defensa frente a depredadores y otros vegetales y, como señala García (2006): como sustancias de reserva, como cicatrizantes y contra actividad microbiana, como regulación en procesos de evaporación y como sustancias de desecho del metabolismo vegetal. En medicina, sin embargo, Bruneton (2001) les atribuye las siguientes propiedades: Poder antiséptico, propiedades espasmolíticas y sedantes, propiedades irritantes (aumento de la microcirculación, por ejemplo), anestésicas, entre otras. Además, son utilizados en perfumería, cosmetología, industria de los alimentos, para productos de limpieza, etc.

#### 2.2.2.B.c.2 LACTONAS SESQUITERPÉNICAS

También conocidas como “*principios amargos*”, estas sustancias derivan de los sesquiterpenos, de la unión de tres fragmentos de isopreno. (Domínguez 1973, Lock 1988). Pueden hallarse en todas las partes de las plantas, en concentraciones que varían de 1-8 % del peso seco, aunque las mayores concentraciones suelen encontrarse en las hojas. De acuerdo con Lock (1988) son “*estructuras muy diversas (...) pero con un anillo característico de  $\gamma$ -lactona- $\alpha,\beta$ -insaturado (...) Estudios demuestran que el anillo de lactona se forma a partir del grupo isopropenilo de un sesquiterpeno*”.

Estas sustancias, aunque han sido poco estudiadas como afirma Domínguez (1973), han demostrado tener una importante acción biológica y medicinal: acción citotóxica, antitumoral, analgésica, como inhibidores del crecimiento de bacterias, etc. (Lock 1988).

#### 2.2.2.B. d) Alcaloides

Su definición aún no está definida a pesar de conformar el grupo más numeroso de todos los metabolitos secundarios (Según Lock (1988) y Valencia (1995) se conocen entre 5000 – 5500). Valencia (1995) afirma que el término “*alcaloide*” deriva de “*álcali vegetal*”, ya que se usó primero para designar a un grupo de bases de origen vegetal. Lock (1988) los define como: “*sustancias básicas que contienen uno o más átomos de N como parte de un sistema cíclico, que manifiestan significativa actividad farmacológica y que han sido sintetizados de aminoácidos como precursores*” Valencia (1995) agrega además que “*son compuestos sólidos,*

*crystalinos e incoloros*” y que aunque esta definición es aceptable, también existen excepciones. Este autor afirma que una propiedad común en todos los alcaloides es su “*acción farmacológica*”, ya que “*con una dosis mínima de ellos se obtiene su máxima acción, y así, muchos son venenosos*”.

En las plantas, los alcaloides se encuentran formando sales solubles como insolubles, y generalmente se combinan con los ácidos málico, oxálico, succínico, cítrico, tartárico, tánico, aconítico, mecónico, quínico y caféico. Además, algunas veces los alcaloides están unidos a azúcares formando glicolacaloides, otras están en forma de amidas, de ésteres o de óxidos de nitrógeno. (Valencia 1995).

Pueden encontrarse en cualquier parte de la planta y aunque su acción dentro de ella no es muy clara todavía, se presume que cumplen las siguientes funciones<sup>2</sup>:

- Son depósitos para la síntesis proteica.
- Estimulantes o reguladores del metabolismo celular, crecimiento y reproducción.
- Actúan como núcleos de coenzimas u hormonas.
- Son fuentes desintoxicantes en procesos de mutilación, condensación, cierres de anillos, etc.
- Son sustancias de reserva que proveen de N y otros elementos necesarios.

### 2.2.3 MÉTODOS DE ANÁLISIS FITOQUÍMICOS

Tal como se señaló anteriormente, no existe una metodología definida para la realización de un análisis fitoquímico; depende de cada investigador adaptar las metodologías existentes a sus propias necesidades.

---

<sup>2</sup> García (2006)

A nivel internacional existen diferentes normas y regulaciones específicas para productos naturales elaborados a base de extractos de plantas tales como las de la Oficina de Medicina Alternativa (NHI) de los Estados Unidos, la Norma ISO-90014 para fitomedicamentos y las diversas farmacopeas<sup>3</sup> propias de cada país o región; las mismas que pueden servir de base y consulta al momento de plantearse el análisis fitoquímico para una determinada planta o grupo de ellas. De otro lado, la Organización Mundial de la Salud (OMS) desarrolló en 1998 una *ruta crítica* para el tamizaje fitoquímico de plantas medicinales, la misma que consta de una serie de ensayos tanto físicos como químicos para la determinación de los principios activos presentes en las plantas (OMS, 1998).

En el Perú, una de las metodologías más reconocidas es la de la investigadora Olga Lock quien nos presenta “*una serie de métodos para la detección preliminar de los diferentes constituyentes químicos de las plantas*” basados en ensayos de coloración y extracción mediante los solventes apropiados. (Lock 1988). Esta autora nos indica que todo análisis fitoquímico comprende cuatro etapas bien definidas:

1. Recolección y clasificación botánica de la especie en estudio.
2. Extracción, separación y purificación de los constituyentes químicos.
3. Determinación estructural y,
4. Ensayos farmacológicos.

Este último puede llegar a tomar muchos años y de acuerdo con la misma autora deberían realizarse “*a lo largo de todo el análisis fitoquímico*”, ya que el principal objetivo del mismo es determinar la acción farmacológica de la planta en estudio y cómo aplicarla en la preparación de diferentes medicamentos, sin que estos causen efectos secundarios de gravedad.

---

<sup>3</sup> Farmacopea: Libro recopilatorio de recetas medicinales que oficialmente cada Estado debería publicar como norma legal para la preparación, experimentación, prescripción, etc., de los medicamentos. (*Real Academia de la Lengua Española*).

Teniendo en cuenta estas cuatro etapas, García (2006) presenta una *Secuencia de Investigación Fitoquímica* más completa, la misma que por su extensión se detalla en el Anexo N° 1.

#### 2.2.4 ANÁLISIS FITOQUÍMICOS EN MYRTACEAE

Las diferentes Farmacopeas publicadas a nivel mundial fueron elaboradas en base a los diferentes análisis fitoquímicos practicados a diversas plantas denominadas “medicinales” o con propiedades curativas, como es el caso de varias especies pertenecientes a la familia Myrtácea, de la cual el camu camu (*M. dubia*) es miembro. En esta familia, Boccia *et al* (2006), reportó el aislamiento de terpenoides, flavonoides y otros compuestos fenólicos.

Si bien este tipo de estudios en la planta de camu camu son escasos o nulos, en otras especies tales como el arazá (*Eugenia spp.*) y la guayaba (*Psidium guajava*), son más comunes. Dichas especies no sólo pertenecen a la misma familia que el camu camu, sino que además morfológicamente son muy parecidas a él, se les suele encontrar compartiendo el mismo hábitat y se les ha reportado propiedades curativas similares. (Brack 1999 y Vásquez 2000).

Así por ejemplo, tenemos los siguientes casos:

##### 2.2.4. A) ANÁLISIS FITOQUÍMICOS EN GUAYABA (*Psidium spp.*)

Diferentes especies de *Psidium* han sido objeto de tamizajes y análisis fitoquímicos debido a las propiedades medicinales que se les reportan: antidiarreico, antiespasmódico, antiemético, antitusígeno, contra la gastroenteritis, la leucorrea, la conjuntivitis aguda, el estreñimiento la bronquitis y resfríos y los dolores menstruales. (Brack 1999, Taylor 2005 y Neira *et al* 2005). A continuación se presentan algunos ejemplos:

##### 2.2.4.A. a) *Psidium guajava*

De todas las especies de *Psidium* está debe ser la más estudiada ya que está ampliamente distribuida en toda la región tropical (Brack, 1999).

Para esta especie se han identificado los siguientes compuestos químicos: Alanina, arabinosa, ácido ascórbico, taninos catecólicos, ácido elágico, aceites esenciales (como el  $\alpha$ -pineno y el

1,8-cineol), flavonoides, ácido gálico, ácido glutámico, histidina, isoquercetina, lectinas, ácido linoleico, miricetina, ácido oléico, ácido palmítico, pectinas, polifenoles, quercetina, quercitrina, taninos, terpenos, entre los más conocidos. (Taylor 2005, Huamaní y Ruiz 2005).

Por esta razón, diferentes análisis fitoquímicos se han realizado con ella. Uno de ellos, el de Huamaní y Ruiz (2005), produjo el siguiente resultado:

Cuadro 4. Ensayo fitoquímico al azar de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*)

Ensayo	Metabolito	Resultado
Molish	Carbohidratos	-
Gelatina	Taninos	+
Dragendorff	Alcaloides	-
FeCl <sub>3</sub>	Comp. Fenólicos	+
Shinoda	Flavonoides	+
	Presencia lignina	-

FUENTE: Huamaní y Ruiz (2005)

Vargas *et al* (2005), con el propósito de identificar flavonoides (miricetina, quercetina, y kaempferol) y flavonas (luteolina y apigenina) en diferentes partes de la guayaba y luego determinar en qué fase fenológica éstos eran más abundantes, también realizó un estudio fitoquímico. Esta investigación determinó que la quercetina fue el flavonoide más abundante en todos los órganos y que la mayor concentración de los mismos se presentó en las hojas durante la época seca (julio) y en la yema floral en marzo. El estudio fue realizado con plantas cultivadas en Méjico.

Otros autores como Taylor (2005) también identifican a la quercetina como el compuesto activo más importante que presenta la guayaba (*P. guajava*). La autora comenta que en un estudio sobre las propiedades espasmolíticas de la guayaba, se halló que la quercetina “*es el probable compuesto que contribuye con el efecto antidiarreico y antiespasmódico de la guayaba*”, y que el efecto relajante que presentan los extractos alcohólicos preparados con hojas de esta especie también estarían relacionados con la quercetina. La misma autora también indica que:

- Las hojas de *P. guajava* presentan otros flavonoides (además de quercetina) y triterpenos con propiedades antiespasmódicas. (Lozoya *et al* y Begum *et al*, citados por Taylor 2005).
- Estudios *in vitro* realizados con extractos de hojas y corteza de *P. guajava* han demostrado tener acción antibacterial. (Abdelrahim *et al*, citado por Taylor 2005).
- Existen estudios clínicos sobre los extractos de hojas demostrando su efectividad contra la enteritis rotaviral infantil. (Jiménez-Escrig *et al*, citado por Taylor 2005).
- Marquina *et al* (2008), en un estudio sobre “Composición química y capacidad antioxidante de la mermelada de guayaba (*P. guajava*)” también encontró que “*el contenido de flavonoides era mayor en las hojas que en sus frutos*”.

#### 2.2.4.A. b) *Psidium guineense*

Se diferencia de *P. guajava* en que es más pequeña (tanto la planta como el fruto), pero al igual que la anterior, ambas son de origen peruano (Brack 1999). A esta especie también se le han atribuido propiedades medicinales como antiflatulento, antidiarreico, contra la bronquitis y resfríos, entre otros (Brack 1999 y Neira *et al* 2005). Por esta razón Neira, junto con otros investigadores, realizaron en el 2005 un estudio fitoquímico a diferentes partes de esta planta - entre ellas las hojas- encontrándose diferentes metabolitos secundarios, entre ellos flavonoides (avicularina, guayaijaverina y quercetina), pero estos últimos en el fruto. (Neira *et al* 2005). Los resultados del tamizaje fitoquímico realizado a las hojas se presentan en el cuadro 5.



Cuadro 5. Tamizaje fitoquímico de las hojas de *Psidium guineense*

Ensayo	Metabolito	Resultado
Fehling	Aldehidos	+
Legal	Lactonas insaturadas	-
FeCl <sub>3</sub>	Fenoles	+
Legal	Cetonas - metil cetonas	-
Liebermann-Buchard	Esteroides y triterpenos	+
Dragendorff	Alcaloides	+
Shinoda	Flavonoides	-
FeCl <sub>3</sub>	Taninos	+
Antrona	Glicósidos	+

FUENTE: Neira *et al* (2005)

#### 2.2.4. B) ANÁLISIS FITOQUÍMICOS EN ARAZÁ (*Eugenia spp.*)

##### 2.2.4.B. a) *Eugenia uniflora*

Planta originaria de Brasil. Se le atribuyen las siguientes propiedades medicinales: antiirreumático, antifebrífugo, astringente. Schmeda *et al* y Hayashi *et al*, citados por Suárez (1995), encontraron flavonoides presentes en esta especie tales como quercitina, quercetina, miricetina y miricetrina, los mismos encontrados para la guayaba (*Psidium guajava*).

##### 2.2.4.B. b) *Eugenia acrantha*

Planta originaria de Cuba; un estudio fitoquímico realizado por Payo, Oquendo y Oviedo (1997), produjo los siguientes resultados:

Cuadro 6. Tamizaje fitoquímico de hojas y tallos de *Eugenia acrantha*

Metabolito	H	T
Alcaloides	-	-
Saponinas	-	+
Taninos	+	+
Aminas	+	+
Fenoles	-	+
Cumarinas	-	t
Flavonoides	t	-
Esteroles B	-	-
Esteroles D	t	t
Glicósidos B	+	t
Glicósidos D	-	-

**H:** Hojas; **T:** Tallos; **t:** trazas.

FUENTE: Payo *et al* (1997).

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 LUGAR DE ESTUDIO

La fase de campo fue realizada en el caserío 7 de Junio del distrito de Yarinacocha, Pucallpa – Perú; la fase experimental en el Laboratorio de Pulpa y Papel de la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad Nacional Agraria “La Molina” y el análisis de los flavonoides en el Centro de Productos Naturales del Centro Nacional de Investigaciones Científicas de La Habana, Cuba.

#### 3.2 MATERIALES Y EQUIPOS

##### 3.2.1 MATERIALES E INSUMOS

- Hojas/corteza de camu camu arbustivo (*M. dubia*).
- Agua destilada ( $H_2O$ ).
- Etanol 96° ( $C_2H_5OH$ ).
- Metanol para análisis ( $CH_3OH$ ).
- Tolueno para análisis ( $C_6H_5CH_3$ ).
- Yoduro de potasio para análisis (KI).
- Yodo para análisis (I).
- Ácido sulfúrico concentrado ( $H_2SO_4$ ).
- Dicromato de Potasio para análisis ( $K_2Cr_2O_7$ ).
- Cinta de Magnesio (Mg).
- Ácido clorhídrico concentrado químicamente puro (HCl).
- Tricloruro Férrico ( $FeCl_3$ ).
- Cloruro de sodio para análisis (NaCl).
- Hidróxido de sodio para análisis (NaOH).
- Cloroformo para análisis ( $CHCl_3$ ).

- Alcohol amílico (C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>OH).
- Desecador.
- Cápsulas de porcelana de 30 mL.
- Cápsulas de vidrio de 25 mL.
- Vaso de precipitados de 50, 100 y 600 mL.
- Embudos de vidrio, grandes y chicos.
- Matraces 100 y 250 mL.
- Pipetas de 5 y 10 mL.
- Varillas de vidrio.
- Luna de reloj.
- Tubos de ensayo.
- Gradillas.
- Botellas de vidrio.
- Algodón.
- Papel de filtro cualitativo sin marca.
- Tijeras para papel.
- Bolsas herméticas “Ziploc” de 26.8 x 27.9 cm.
- Cuchilla de escritorio.
- Probetas de 100 y 500 mL.
- Balón de 500 mL.
- Fiolas de 10, 50 y 200 mL.
- Filtros de 0.45 µm.
- Placas fluorescentes con respaldo flexible para cromatografía de capa fina, de 250 µm, 60 Å y 20 x 20 cm.
- Jeringas de 15 mL.

### 3.2.2 EQUIPOS

- Hornillas eléctricas.
- Mufla marca Thermolyne, modelo Furnace 48000 de 0° - 1200° C.
- Balanza marca SAUTER de 0.01 g de precisión.
- Balanza analítica marca OHAUS de 0.0001 mg de precisión.

- Estufa marca Heraus de 0° - 115° C.
- Rotavapor marca BUCHI.
- Equipo Clevenger para hidrodestilación.
- Espectofotómetro UV – Vis Modelo Hedios δ.
- Trampa de Dean Stark.
- Lámpara de Luz UV de 254 – 365 nm.
- Agitador orbital marca IKA LABORTECHNIK de 0 a 500 revoluciones/min.
- Microscopio compuesto marca Olympus.
- Molino marca Arthur M. Thomas Co. de 1/3 HP.
- Cámara digital Kodak modelo DC 3200.

### 3.3 METODOLOGÍA

La presente investigación estuvo dividida en tres fases correspondientes a los tres estadios fenológicos: floración/fructificación, fructificación y dormancia (sin flor ni fruto); cada una, dividida en cuatro etapas: obtención del material, preparación y evaluaciones físicas, marcha fitoquímica, caracterización del metabolito.

#### 3.3.1 OBTENCIÓN DEL MATERIAL BIOLÓGICO

Las muestras de hojas y de corteza correspondiente a cada etapa fenológica utilizadas para el presente estudio, fueron obtenidas de la parcela del Ing. Pablo Villegas, productor de Camu camu arbustivo (*M. dubia*), la cual está localizada en el caserío “7 de Junio” del distrito de Yarinacocha, provincia de Coronel Portillo, departamento de Ucayali, Perú (Cuadro 8). El total del predio al momento de la colecta era de 2 Ha y durante la época de lluvia es bañado por las aguas de la laguna Yarina, quien a su vez recibe sus aguas del río Ucayali. En esta localidad, el camu camu presenta el siguiente comportamiento fenológico:

Cuadro 7. Fenología del Camu camu (*Myrciaria dubia*) en el caserío 7 de Junio – Pucallpa

Estado Fenológico	Meses											
	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Set
Floración	x	x	x	x	x	x						
Fructificación		x	x	x	x	x	x	x				
Dormancia									x*	x	x	x*

FUENTE: Pablo Villegas

x\*: En junio se pueden encontrar remanentes de frutos, así como en setiembre las primeras flores.

Cuadro 8. Ubicación de la parcela de Camu camu (*M. dubia*) de donde se obtuvieron las muestras

Vértices	Coordenadas	
P1	8° 17' 22.46" S	74° 37' 40.80" O
P2	8° 17' 24.53" S	74° 37' 40.49" O
P3	8° 17' 21.31" S	74° 37' 34.50" O
P4	8° 17' 23.34" S	74° 37' 33.23" O

FUENTE: Google Earth (<http://earth.google.com>)

Para la obtención del material se procedió a cortar las ramas nuevas o jóvenes, que no estuvieran en producción o con flores, de la parte inferior del arbusto. Una vez obtenidas las ramas, se les retiró las hojas y se cortaron en longitudes que permitieran su traslado a Lima con mayor facilidad. Durante este procedimiento, ocurría una primera selección de las hojas y ramas a transportar: aquellas que estuvieran enfermas o demostraran la presencia de haber sido atacadas por algún insecto o plaga, eran descartadas. Las ramas cortadas y las hojas fueron transportadas en sacos de yute para harina de 50 Kg. También se incluyó como parte de las muestras el ritidoma de las cortezas. Antes de ser trasladadas a Lima las muestras fueron oreadas al aire por aproximadamente un día.

### 3.3.2 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Una vez en el laboratorio, las hojas fueron oreadas nuevamente por uno o dos días, dependiendo de la disponibilidad de mesas en el laboratorio. Aquí se procedía a seleccionarlas nuevamente: Para las tres etapas fenológicas las hojas llegaron con un agradable aroma dulce, por lo que se procedió a separar las que estuvieran más verdes para la obtención de aceites esenciales. Al mismo tiempo, nuevamente se descartaban las hojas que tuvieran alguna señal de daño o ataque de plagas o enfermedades que pudieron haber quedado de la primera selección. En cuanto a la corteza, nuevamente se seleccionaban aquellas ramitas que no presentaran evidencia de daño por hongos o insectos, y se procedía a “desbastarlas” con una cuchilla de escritorio para poder obtener dicho material. El total de las ramas seleccionadas era “desbastado”.

Luego de la nueva selección, ambas muestras –de hojas y corteza, incluido el ritidoma- fueron molidas y pasadas a través de un tamiz de 20 mm de lado para de esa manera aumentar el contacto del material con los diferentes reactivos que se usaron durante los ensayos físicos y químicos. Se pesó aproximadamente 500 g de hojas (de cada fase fenológica) y se almacenaron en bolsas “ziploc” para evitar su oxidación; del mismo modo se procedió con el material restante (hojas enteras). El total de la corteza también fue molido y almacenado, así como las hojas seleccionadas para el ensayo de aceites esenciales.

Cada muestra fue designada con las siguientes abreviaturas:

- H<sub>Fl</sub>: Hojas de floración.
- C<sub>Fl</sub>: Corteza de floración.
- H<sub>Fr</sub>: Hojas de fructificación.
- C<sub>Fr</sub>: Corteza de fructificación.
- H<sub>D</sub>: Hojas de dormancia.
- C<sub>D</sub>: Corteza de dormancia.

### 3.3.3 ENSAYOS FÍSICOS

#### 3.3.3. A) ENSAYOS DE HUMEDAD

Se realizaron de acuerdo al procedimiento descrito en la **NTP 251.010 – 2004**. Para las hojas se realizaron los dos tipos de ensayo de humedad descritos en la norma, mientras que para la corteza sólo se realizó el “*método de secado en estufa*”.



Figura 5. Ensayo Humedad Azeotrópica con Trampa Dean Stark –  $H_{Fr}$ .

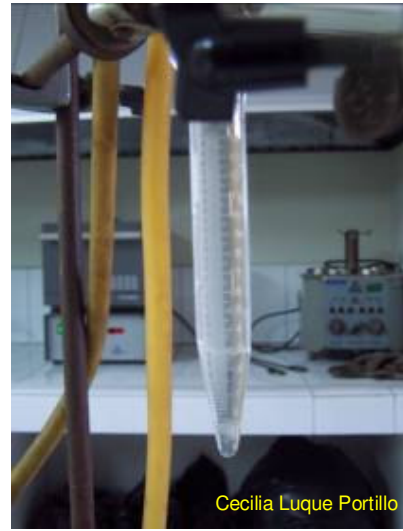


Figura 6. Tubo colector de la Trampa Dean Stark con contenido de agua de la muestra.

#### 3.3.3. B) PORCENTAJE DE CENIZAS

Se hicieron tres tipos de ensayo de cenizas, todas siguiendo las normas de la “*AOAC de Métodos oficiales para Análisis*”:

- Cenizas totales (**Norma N° 942.05**).
- Cenizas solubles en Agua (**Norma N° 900.02 D**).
- Cenizas insolubles en HCl (**Norma N° 900.02 D**).



### 3.3.3. C) ENSAYO DE SOLUBILIDAD

Determina el grado de alcohol al cual los diferentes metabolitos secundarios son más solubles. El procedimiento está descrito en la norma **NRSP – 309**. Se hizo una prueba de solubilidad para cada muestra de hojas y corteza de cada etapa fenológica, con cinco diferentes grados de polaridad: alcohol de 30°, 50°, 70°, 90° y agua.

### 3.3.3. D) INDICE DE ESTOMAS: PUNTOS TRASLÚCIDOS

El índice de estomas sirve para inferir la capacidad de la planta de producir aceites esenciales, de acuerdo con su forma y cantidad. El procedimiento está descrito en la norma NRSP – 309; sin embargo, debido a que no se contó con los equipos necesarios, se compararon los puntos traslúcidos de hojas de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) y guayaba (*Psidium guajava*) –especies en las que se ha comprobado la presencia de aceites esenciales- con los del Camu camu (*Myrciaria dubia*). Para ello, con un microscopio y una reglilla circular de 10 mm<sup>2</sup> de área se hicieron 5 medidas en forma zigzagueante en 5 láminas foliares de cada una de las tres especies; en el caso del camu camu, en 5 láminas de hojas maduras y en 5 de hojas jóvenes.

### 3.3.4 TAMIZAJE FITOQUIMICO

Representa el ensayo principal del estudio pues aquí se determinaron de forma cualitativa aquellos grupos de metabolitos secundarios presentes en las muestras. Para ello, se consultaron dos tipos de metodologías: El propuesto por Olga Lock (1988) y el *Tamizaje fitoquímico según la ruta crítica de la OMS para extractos de plantas* (OMS 1998). Dado que algunos ensayos propuestos por Lock también se describen en la ruta crítica de la OMS, fue esta última la que se escogió para realizar el tamizaje, teniendo en cuenta además, los insumos y reactivos que se necesitan en cada método.

El tamizaje se planificó para identificar:

- Alcaloides
- Saponinas
- Quinonas
- Flavonoides

- Lactonas sesquiterpénicas
- Azúcares, azúcares reductores
- Compuestos grasos
- Taninos/fenoles.

La marcha se realizó de la siguiente manera: Una vez identificado el grado de alcohol en el que los metabolitos son más solubles, se enumeraron 11 tubos de ensayo, uno para cada prueba, y en cada uno se colocó aproximadamente 1 mL de la solución (alcohol + extracto). Luego, se procedió a la identificación de los grupos de metabolitos mediante los diferentes ensayos escogidos. Como se trabajó con un solvente orgánico, algunos ensayos requirieron que se evaporara previamente el alcohol, antes de aplicar el reactivo correspondiente; tal es el caso de las pruebas de: Dragendorff, Mayer, Wagner, Bornträger, Baljet y Fehling.

El procedimiento para cada ensayo fue el siguiente<sup>4</sup>:

- Dragendorff (Alcaloides): Una vez evaporado el solvente orgánico, redissolver en 1 mL de HCl (1%), calentar suavemente y dejar enfriar. Añadir tres gotas del reactivo.
- Mayer (Alcaloides): Una vez evaporado el solvente orgánico, redissolver en 1 mL de HCl (1%), calentar suavemente y dejar enfriar. Añadir una pizca de NaCl en polvo, agitar y filtrar: Añadir 2 – 3 gotas de reactivo.
- Wagner (Alcaloides): Una vez evaporado el solvente orgánico, redissolver en 1 mL de HCl (1%), calentar suavemente y dejar enfriar. Añadir 2 – 3 gotas de reactivo.
- Bornträger (Quinonas): Una vez evaporado el solvente orgánico, redissolver en 1 mL de cloroformo; añadir 1 mL de NaOH al 5%. Agitar mezclando las fases y dejar en reposo hasta su separación.
- Baljet (Lactonas sesquiterpénicas): Una vez evaporado el solvente orgánico, redissolver en la menor cantidad de alcohol posible (1 mL) y adicionar 1 mL de reactivo.

---

<sup>4</sup> La preparación de los diferentes reactivos se especifica en el Anexo 2.

- Sudán (Compuestos grasos): Añadir 1 mL de una solución diluida en agua de Sudán III y calentar en baño maría hasta evaporar el solvente.
- Fehling (Azúcares reductores): Una vez evaporado el solvente orgánico, redissolver en 1 – 2 mL de agua y agregar 2 mL de reactivo. Calentar la mezcla en baño maría 10 – 30 minutos.
- Espuma (Saponinas): Diluir el solvente orgánico con cinco veces su volumen en agua y agitar fuertemente por 2 minutos.
- FeCl<sub>3</sub> (Compuestos fenólicos: taninos): Agregar tres gotas de reactivo. A cada 100 mL de solución agregar 1 mL de HCl concentrado.
- Shinoda (Flavonoides): Diluir con 1 mL de HCl concentrado y un pedacito de Mg metálico. Esperar cinco minutos y añadir 1 mL de alcohol amílico. Mezclar las fases y dejar reposar hasta que se separen.
- Molish (Azúcares): Al extracto, añadir alfa-naftol al 5% en etanol; mezclar y por la pared del tubo añadir H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado.

La calificación asignada al término de cada prueba fue la siguiente:

- + + + : Reacción muy evidente.
- + + : Reacción evidente.
- + : Reacción poco evidente pero aceptable.
- - : No hubo reacción / reacción negativa.

### 3.3.5 CARACTERIZACION DE METABOLITOS SECUNDARIOS

Se escogió caracterizar dos grupos químicos descritos anteriormente, por su relativa importancia y notoriedad actual en la fitoterapia: aceites esenciales y flavonoides.

Para los aceites esenciales se escogió el método de “*Destilación por arrastre de vapor de agua*” utilizando un equipo Clevenger (Figura 7), pues éste permite obtener un mayor rendimiento de aceite. El procedimiento fue descrito por Domínguez (1973).



Figura 7. Destilación de  $H_{Fr}$  utilizando equipo Clevenger.

Para la caracterización de los flavonoides se empleó el método de Tomás-Barberán (1992) y de Mabry *et al.* (1970) –este último para la espectroscopia UV-, ambos descritos por Vit (1993). Su identificación se hizo con un equipo Shimadzu QP-20- UV, del Centro de Productos Naturales del Centro Nacional de Investigaciones Científicas, La Habana, Cuba; y su semicuantificación se hizo por densitometría, mediante el programa según la Ley de Lambert-Beer (COSY-UV-RDF) de Merck, en el mismo Centro.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 ENSAYOS DE HUMEDAD

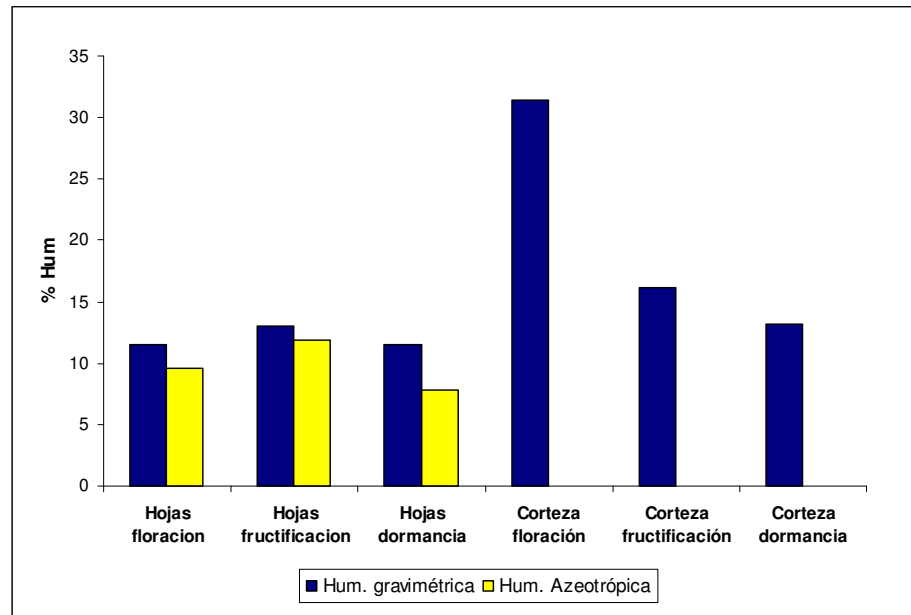


Figura 8. Comparación resultados Humedad gravimétrica vs. Humedad azeotrópica

El que la humedad azeotrópica haya resultado menor que la gravimétrica para las muestras de hojas, confirma la suposición de que en éstas existen compuestos volátiles que con el método gravimétrico se pierden junto con el agua. El tamizaje fitoquímico y la destilación de las hojas con el método de arrastre de vapor de agua confirmarán si se trata de aceites volátiles o de otros compuestos.

La muestra de hojas en fructificación presentó el mayor porcentaje de humedad con los dos métodos. Probablemente se deba a la época del año en que fueron obtenidas (mediados de mayo).

La muestra de hojas en dormancia presentó el menor porcentaje de humedad con el método azeotrópico, mas no hubo diferencias entre esta muestra y la de hojas en floración con el

método gravimétrico (ambas resultaron 11.5%). Al parecer, en la muestra de hojas en dormancia había mayor cantidad de compuestos volátiles, aunque este resultado también puede tener relación con la época del año en que se obtuvieron las muestras (mediados de enero).

En cuanto a las muestras de corteza, el mayor contenido de humedad se reporta para la muestra de corteza en floración. Esto se explica porque las ramas de donde se obtuvo la muestra permanecieron sumergidas en agua para facilitar el desbastado, ya que era difícil realizar esta operación con la cuchilla. Aunque para las tres fases se realizó el humedecimiento, las ramas de floración permanecieron más tiempo en el agua que las otras dos muestras. Por esta misma razón los contenidos de humedad de las muestras de corteza presentan porcentajes más altos que las hojas; aunque en general, los contenidos de humedad para las seis muestras están dentro del rango apropiado para la ciudad de Lima (entre 11 – 14% de C.H.).

#### 4.2 ENSAYOS DE CENIZAS

En cenizas, se obtuvo los siguientes resultados para las muestras de hojas y corteza:

Cuadro 9. Resultados de cenizas en hojas de Camu camu (*M. dubia*)

Ensayo	Hojas floración	Hojas fructificación	Hojas dormancia	Promedio
% C <sub>T</sub> prom	3.60	4.30	5.80	4.57
% C <sub>sH<sub>2</sub>O</sub>	9.03	5.37	9.15	7.85
% C <sub>iHCl</sub>	0.00	0.00	1.30	0.43

% C<sub>T</sub> prom: Porcentaje de cenizas totales promedio.

% C<sub>sH<sub>2</sub>O</sub>: Porcentaje de cenizas solubles en agua.

% C<sub>iHCl</sub>: Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico.

Cuadro 10. Resultados de cenizas en corteza de Camu camu (*M. dubia*)

Ensayo	Corteza floración	Corteza fructificación	Corteza dormancia	Promedio
% C <sub>T</sub> prom	6.50	6.60	6.90	6.67
% C <sub>S</sub> H <sub>2</sub> O	9.27	7.15	7.00	7.81
% C <sub>I</sub> HCl	0.20	0.70	0.00	0.30

% C<sub>T</sub> prom: Porcentaje de cenizas totales promedio.

% C<sub>S</sub>H<sub>2</sub>O: Porcentaje de cenizas solubles en agua.

% C<sub>I</sub>HCl: Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

Las cenizas representan los compuestos minerales presentes en las plantas que no pueden quemarse. Estos compuestos están presentes en mayor porcentaje en la corteza que en las hojas en donde además, el porcentaje de cenizas es variable, a diferencia de la corteza donde los resultados son más homogéneos (alrededor de 6%). Las hojas, al ser un tejido vivo y el principal órgano fotosintético de las plantas, tienen un mayor intercambio de sustancias minerales y orgánicas, debido a las funciones metabólicas que la planta realiza durante el día.

Los cuadros 9 y 10 reflejan que el contenido de las cenizas totales lo conforman compuestos polares, ya que el contenido de cenizas solubles en agua, tanto en hojas como en corteza (a excepción de las hojas en fructificación) es alto, superior al 7%; mientras que el contenido de cenizas insolubles en HCl es muy bajo o casi nulo en los seis casos, por lo que se puede concluir que en esta planta el contenido de sílice (Si) es bastante bajo.

#### 4.3 PUNTOS TRASLUCIDOS

Los puntos translúcidos son pequeños hoyuelos que suelen presentarse en las superficies de algunos órganos como las hojas, y que por lo general suelen ser gotitas de aceites esenciales (Argimón y Trigo (s.f.), OET 2002). Por esta razón, se compararon estos puntos en hojas de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) y guayaba (*Psidium guajava*) -dos especies de Myrtaceae comprobadas con presencia de aceites esenciales- con dos tipos de hojas de camu camu (*Myrciaria dubia*): jóvenes y maduras:

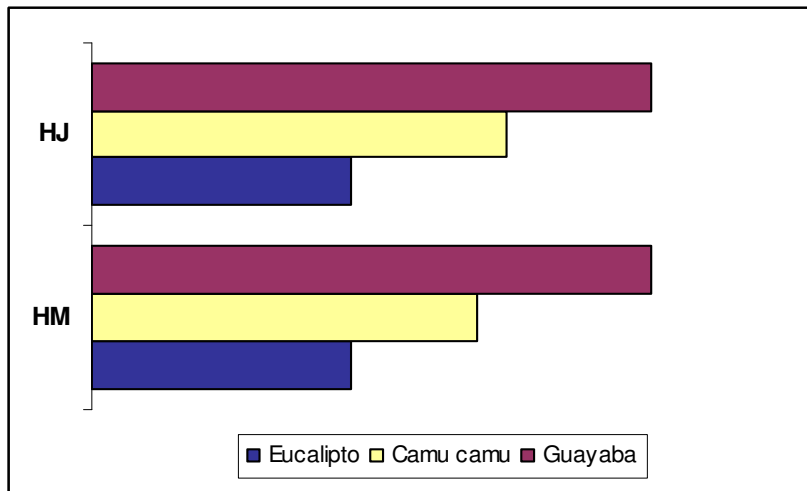


Figura 9. Comparación de puntos traslúcidos/mm<sup>2</sup> en tres especies de Myrtáceas.  
HJ: Hojas jóvenes; HM: Hojas maduras

La guayaba (*P. guajava*) fue la que mayor número de puntos traslúcidos/mm<sup>2</sup> presentó, seguida del camu camu (*M. dubia*) –ambos casos- y por último eucalipto (*E. globulus*).

Al parecer el número de puntos traslúcidos es inversamente proporcional a la cantidad de aceite esencial que la hoja produce, puesto que en *E. globulus* el rendimiento de aceite esencial está entre 2 – 3%, 5% con el método de flujo supercrítico (García 2006), mientras que para *P. guajava*, el rendimiento de aceite esencial varía entre 0.07% - 0.4%. Sin embargo, estos rendimientos sí están directamente relacionados al tamaño de dicho puntos, ya que la guayaba (*P. guajava*) presentó los puntos traslúcidos más pequeños, seguida del camu camu (*M. dubia*) y por último eucalipto (*E. globulus*).

En la figura 9 también se puede apreciar que las hojas jóvenes de camu camu presentan una cantidad ligeramente mayor de puntos traslúcidos que las hojas maduras, aunque el tamaño de éstos entre una y otra no parece variar mucho.

Dados estos resultados, el rendimiento de aceite esencial de camu camu debería encontrarse en un rango intermedio entre los que presentan la guayaba y el eucalipto.



#### 4.4 ENSAYO DE SOLUBILIDAD

El grado alcohólico donde se concentran la mayor cantidad de sólidos totales siempre es variable entre muestras, por lo que no sorprende la disparidad de resultados:

Cuadro 11. Grado alcohólico al que se obtuvo mayor cantidad de Sólidos totales

Muestra	% Sólidos totales	Grado Alcohol
Hojas floración	3.31	70°
Corteza floración	9.47	30°
Hojas fructificación	3.42	50°
Corteza fructificación	2.50	50°
Hojas dormancia	2.57	70°
Corteza dormancia	5.97	50°

#### 4.5 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

En el cuadro 11 se presentan los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico del camu camu (*M. dubia*) en sus tres etapas fenológicas.

Cuadro 12. Resultados del tamizaje fitoquímico en hojas y corteza de Camu camu (*Myrciaria dubia*).

	ENSAYOS																						
	Dragendorff		Mayer		Wagner		Börntrager		Baljet		Sudán		Fehling		Espuma		FeCl <sub>3</sub>		Shinoda		Molish		
	H	C	H	C	H	C	H	C	H	C	H	C	H	C	H	C	H	C	H	C	H	C	
Fl / Fr	+++	++	-	-	+	-	+++	++	+++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	+
Fr	++	-	+	-	-	-	++	++	++	+++	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-
Dormancia	++	-	-	+	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	+++

Fl: floración

Fr: fructificación

H: Hojas

C: Corteza

El cuadro 12 confirma la presencia de: quinonas, lactonas sesquiterpénicas, azúcares reductores, saponinas, taninos y flavonoides. Estos grupos de metabolitos secundarios también se han reportado para guayaba (*Psidium guajava*) y arazá (*Eugenia* spp.). De acuerdo con la OMS (1998), los metabolitos secundarios presentan *un ritmo de variación anual, estacional e incluso diario*, mas el cuadro 12 demuestra que en el camu camu estos seis grupos de metabolitos secundarios se presentaron en las tres etapas fenológicas. No obstante, la misma OMS recomienda determinar *el grado de acumulación del principio activo*, pues si bien la presencia de los metabolitos secundarios no varía con la fenología, su concentración en cada etapa sí lo puede hacer.

#### 4.5.1 ALCALOIDES

Para dar por aceptada la presencia de alcaloides en una planta se deben obtener resultados positivos a por lo menos cuatro pruebas diferentes (Lock 1988). En el caso del camu camu, sólo la prueba de Dragendorff fue positiva en las muestras de hojas de las tres etapas fenológicas. Por lo tanto, se puede decir que los alcaloides no están presentes cualitativamente en el Camu camu (*M. dubia*), y no es a ellos a quienes se debe atribuir su acción terapéutica. Sin embargo, una técnica más sofisticada de determinación de metabolitos podría aclarar el resultado positivo de la prueba de Dragendorff. Cabe resaltar que no se han reportado alcaloides en las Myrtáceas (Watson y Dallwitz, 2000).

#### 4.5.2 COMPUESTOS GRASOS (REACTIVO SUDÁN)

El ensayo con el reactivo Sudán III resultó interesante pues fue un buen indicio de la presencia de aceites esenciales en las muestras de hojas. Para esta prueba se colocó una sola cruz (+) en la mayoría de muestras puesto que la reacción no era muy evidente, es decir, se observaba la transparencia del papel pero no de manera tan clara como con la muestra de hojas en dormancia, por ejemplo, con la que sí se apreció una gran mancha grasosa al agregarle el reactivo al extracto etanólico.

De todos modos, la destilación por arrastre de vapor de agua de las tres muestras de hojas, confirmaría totalmente la existencia de aceites esenciales en la planta.

#### 4.5.3 QUINONAS (BORNTRÄGER)

Los compuestos fenólicos, entre ellos las quinonas, son comunes en la familia Myrtaceae (Boccia et al, 2006). El cuadro 12 presenta resultados positivos a la presencia de éstas en las tres etapas fenológicas para los dos tipos de muestra (hojas y corteza); lo que no es de extrañar pues tal como indica Bruneton (2001) estos compuestos se pueden encontrar de forma libre o formando grupos con los flavonoides o los azúcares.

La diferencia de calificativos entre etapas y muestras se debe a la velocidad de la reacción (++) y a la intensidad de la coloración roja de la fase superior (Ver Anexo 6).

#### 4.5.4 SAPONINAS

El contenido de saponinas en esta planta es muy alto, principalmente en las hojas, cuya espuma podía sobrepasar los 5 cm y permanecer así por alrededor de media hora (Ver Anexo 6). Watson y Dallwitz (2000) indican que las saponinas pueden estar presentes o ausentes en las Myrtáceas, aunque lo común es que estén ausentes. Sin embargo, tanto en *Psidium* como en *Eugenia acrantha* (arazá), los parientes más cercanos del camu camu, se ha reportado presencia, aunque sea en trazas, de estos compuestos.

Las saponinas están relacionadas con la formación de las hormonas vegetales (Lock 1988, Valencia 1995, García 2006) y dado que esta planta está sometida a grandes condiciones de estrés (inundaciones y sequías por períodos largos de tiempo), se podría explicar su abundante presencia en la planta.

#### 4.5.5 TANINOS

La prueba de  $\text{FeCl}_3$  dio resultados positivos en ambas muestras para las tres etapas fenológicas. Valencia (1995) indica que los compuestos fenólicos, principalmente taninos y flavonoides tienen entre sus funciones brindar protección y resistencia a las plantas contra el ataque de plagas o enfermedades, y dado que esta planta en particular pasa mucho tiempo bajo el agua, la síntesis de estos mismos debe ser de suma importancia. El mismo autor también señala que estos compuestos están presentes en hojas y corteza (además de otras partes de la planta) y que

suelen depositarse en los tejidos muertos de estas partes específicas cuando las plantas son adultas (principalmente vacuolas). También indica que la energía producida por la oxidación de estos metabolitos es utilizada por la planta para realizar sus procesos metabólicos. Esta sería otra de las razones del por qué son tan abundantes en el Camu camu.

Aunque se habla de la presencia de compuestos fenólicos en general en la familia Myrtaceae, diferentes tamizajes fitoquímicos en *Psidium* sp. y *Eugenia acrantha*, han resultado positivos para este grupo de metabolitos.

Cabe señalar también, que los taninos aquí presentes son los taninos condensados puesto que con el FeCl<sub>3</sub> presentaron coloración verde oscuro.

Cuadro 13. Resultados de ensayo FeCl<sub>3</sub> en hojas y corteza de Camu camu (*M. dubia*)

Etapa fenológica	Hojas		Corteza	
Floración	+++	Verde oscuro = Taninos condensados	+++	Verde oscuro casi negro = Taninos condensados
Fructificación	+++	Azul intenso al echar el reactivo, verde al adicionar el ácido	+++	Azul intenso al echar el reactivo, verde al adicionar el ácido
Dormancia	+++	Verde-azul (oscuro) al inicio, verde oscuro después de HCl, verde claro a la hora de terminar el ensayo.	+++	Azul intenso al inicio; verde oscuro/azul con el HCl

Como se puede observar en el cuadro 13, al agregar el reactivo la solución etanólica se tornaba azul, lo cual es típico de los taninos hidrolizables. Por ello, adicionalmente se realizó la prueba de “Agua de bromo”, confirmando la presencia de taninos condensados en las muestras.

#### 4.5.5. A) ENSAYO CON “AGUA DE BROMO”

Este ensayo fue descrito por Yague *et al* (1969) y Valencia (1995). Consiste en preparar una solución al 0.4% y adicionarle algunos cm<sup>3</sup> de ácido acético.

Se prepararon 5 tubos de ensayo conteniendo extracto etanólico de las muestras de Hojas (floración, fructificación y dormancia) y Corteza (fructificación y dormancia). Los resultados fueron los siguientes:

- Las 5 muestras presentaron precipitado luego de adicionar el ácido acético, comprobando que los taninos presentes en las muestras son Taninos condensados.
- El tubo con mayor precipitación fue el de Hojas en dormancia, seguido de Hojas en fructificación; en el caso de las muestras con corteza, el tubo con mayor precipitado fue el de Corteza en dormancia.
- Con las muestras de hojas la reacción fue casi instantánea y con mayor cantidad de precipitado que la corteza, las cuales que hubo que dejar reposar unos segundos antes de obtener el precipitado.

#### 4.5.5. B) FLAVONOIDES

Este grupo de metabolitos siempre está presente en la familia Myrtaceae, principalmente kaempferol, quercetina y miricetina (Watson y Dallwitz, 2000). Estos mismos flavonoides se han reportado en numerosas oportunidades para guayaba (*Psidium* spp.) y arazá (*Eugenia* spp.), y diversos autores, como Taylor (2005) le han atribuido a la *quercetina* las propiedades curativas que estas dos plantas presentan.

Como se puede apreciar en el cuadro 12, estos metabolitos están presentes en ambas muestras, en todas las etapas fenológicas; probablemente -así como los taninos- para brindarle protección a la planta contra el ataque de patógenos. Los flavonoides también son importantes pigmentos para las plantas y la coloración rosada de la pulpa del camu camu se puede atribuir a su presencia. Valencia (1995) destaca que son importantes inhibidores de sistemas enzimáticos; esta función podría estar ligada a su misión protectora como respuesta al fuerte estrés al que está sometido el Camu camu durante el período de inundación. Domínguez (1973), Valencia (1995) y Bruneton (2001) señalan que estos compuestos suelen ser abundantes en las hojas y órganos jóvenes, y así lo demuestran los resultados aquí presentes.

Una de las ventajas de la prueba de Shinoda es que al ser una reacción de color, la coloración final del extracto permite inferir qué tipo de flavonoide podría estar presente en las muestras (Lock 1988 y OMS 1998). Los resultados se presentan en el cuadro 14.

Cuadro 14. Resultados de la prueba Shinoda en muestras de hojas y corteza de Camu camu (*Myrciaria dubia*)

Etapa fenológica	Hojas		Corteza	
Floración	+++	Amarillo cristalino (Flavonas / isoflavonas)	+++	Amarillo intenso (Flavonas / isoflavonas)
Fructificación	+++	2 fases: marrón claro la superior. (flavononas / flavonoles)	+++	2 fases: la superior amarillo tipo aceite (flavonas/isoflavonas)
Dormancia	+++	2 fases: marrón oscuro (superior), marrón claro la inferior (flavononas / flavonoles)	+++	2 fases: superior clara-amarillo oliváceo; inferior espesa, amarillo aceite (flavonas / isoflavonas)

Del cuadro 14 se puede deducir que los posibles flavonoides presentes en las muestras de hojas y corteza pertenecen a los grupos de las flavonas, isoflavonas, flavononas o flavonoles, lo cual quedó corroborado luego del análisis de los espectros obtenidos con el espectrofotómetro.

#### 4.5.6 LACTONAS SESQUITERPENICAS

Este grupo de metabolitos también estuvo presente en ambas muestras para los tres periodos fenológicos. Lock (1988) afirma que suelen ser más abundantes en las hojas, y ciertamente fue en este tipo de muestras donde las reacciones fueron más rápidas y de coloración más oscura que en la corteza (Ver Anexo 6). La presencia de estos compuestos en el Camu camu podría estar relacionada con el alto contenido de ácido ascórbico reportado para esta planta, ya que este compuesto -una *cetolactona* de seis carbonos- se oxida hacia *ácido deshidroascórbico*, el cual posee actividad completa de vitamina C<sup>5</sup>.

<sup>5</sup> Se conoce con el nombre de Vitamina C a todos los compuestos que tienen la actividad biológica del ácido ascórbico (www.biopsicologia.net)

#### 4.5.7 AZÚCARES Y AZÚCARES REDUCTORES

Los resultados demuestran una notable presencia de azúcares reductores, principalmente disacáridos, en las muestras de hojas y corteza del Camu camu, ya que la coloración de los extractos al término de cada prueba de Fehling, en cada una de las muestras, fue rojo ladrillo (Ver anexo 6). Este resultado corrobora lo expresado por Watson y Dallwitz (2000) quienes indican que en las Myrtáceas los azúcares son transportados como oligosacáridos + sacarosa (disacárido de glucosa + fructuosa). Del mismo modo, el tamizaje fitoquímico realizado por Neira *et al.* (2005) con hojas de *Psidium guineense* (guayaba) también señala un resultado positivo al ensayo de Fehling.

Los azúcares reductores, de acuerdo con Armstrong y Bennet (1982), tienen la propiedad de provocar la alteración de las proteínas mediante la reacción de *glucosilación no enzimática*, y se piensa que esta reacción está relacionada con los procesos de envejecimiento celular, por lo que su presencia, tanto en hojas y sobre todo en la corteza, no sorprende.

La prueba al reactivo de Molish sin embargo, resultó negativa en términos generales, ya que sólo dos muestras de corteza reaccionaron positivamente con el reactivo (Corteza en floración y Corteza en dormancia). Este resultado coincide con el hallado por Huamaní y Ruíz (2005) en hojas de guayaba (*Psidium guajava*), que también resultó negativo a este ensayo. Esto estaría indicando que la presencia de monosacáridos es menos frecuente que la de los disacáridos, por lo menos en el camu camu; aunque esto también estaría en función del momento en que se realizó la recolección de las muestras. (OMS 1998 y García 2006).



#### 4.6 RENDIMIENTO DE ACEITES ESENCIALES

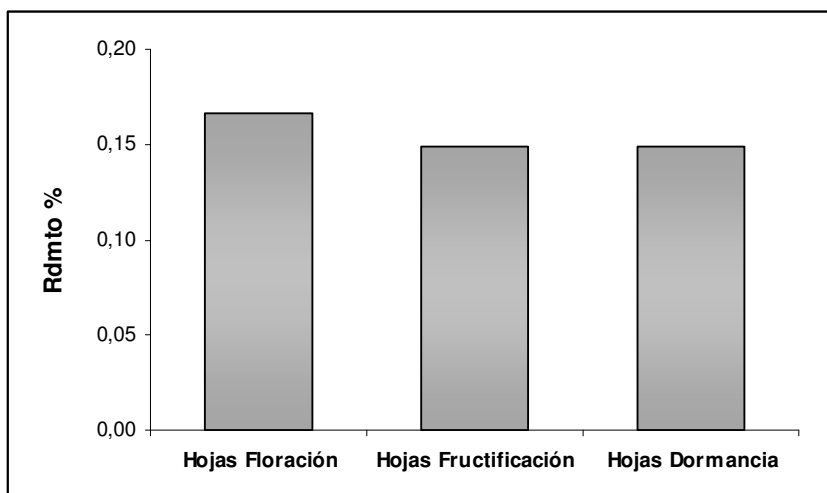


Figura 10. Rendimiento de aceites esenciales en hojas de Camu camu (*M. dubia*) de tres etapas fenológicas distintas

La destilación de las muestras de hojas por el método de arrastre de vapor de agua, corroboró los resultados obtenidos con la prueba del reactivo Sudán III (cuadro 12), comprobando la presencia de aceites esenciales en las hojas de Camu camu (*M. dubia*) en las tres etapas fenológicas; sólo varía su rendimiento.

En la figura 10 se observa que la muestra de hojas en floración presentó una ligera mayor cantidad de aceites esenciales (0.17%), en comparación con las muestras de fructificación y dormancia que presentaron el mismo rendimiento (0.15%); comprobándose así que la producción de aceites esenciales está ligada a una estrategia de la planta por atraer polinizadores.

Con el método de destilación por arrastre de vapor de agua el rendimiento de aceites esenciales nunca es alto; sin embargo, el promedio obtenido para camu camu (0.16%) está por debajo del mínimo aceptable (0.5%). No obstante, este rendimiento se encuentra entre los rangos del aceite esencial de guayaba (*P. guajava*) y de eucalipto (*E. globulus*): 0.07% - 0.44 y 2 - 3 %, respectivamente, tal y como se preveía con los resultados de los puntos traslúcidos.

#### 4.7 CARACTERIZACIÓN DE FLAVONOIDES

Esta caracterización se hizo mediante la interpretación de los 28 espectros<sup>6</sup> obtenidos con la espectrofotometría UV, realizada en el Centro de Productos Naturales de Cuba, encontrándose los siguientes resultados:

Cuadro 15. Flavonoides identificados en las hojas y corteza de Camu camu (*M. dubia*).

Tipo de muestra	Flavonoide			
	Quercetina	Isoquercetina	Genisteína	Kaemferol
Hojas floración				
Corteza floración				
Hojas fructificación				
Corteza fructificación				
Hojas dormancia				
Corteza dormancia				

El patrón utilizado para comparar las muestras fue “escopoletina”, en donde se pudo identificar isoflavonas como kaemferol y genisteína.

La concentración de cada flavonoide en las muestras fue el siguiente:

- Quercetina 0.412 mg %
- Kaemferol 0.892 mg %
- Genisteína 4.201 mg %

Del cuadro 15 se observa que la quercetina está presente en las tres muestras de hojas y en la muestra de corteza en dormancia; mientras que su isómero está presente de forma inversa: en las tres muestras de corteza y en las muestras de hojas en dormancia. Aparentemente, al momento en que las muestras de dormancia fueron colectadas se estaba desarrollando la isomerización de la quercetina y por eso está presente en ambas muestras. También se aprecia

<sup>6</sup> Los espectros más representativos para cada una de las muestras se encuentran en el Anexo 7.

que, salvo las muestras de corteza en floración y corteza en fructificación, se presentan dos tipos de flavonoides en cada muestra.

El reactivo Shinoda advertía la presencia de flavonas, isoflavonas, flavonoles o flavononas en las muestras, lo cual queda demostrado con los flavonoides identificados por medio de los espectros: quercetina y kaemferol (flavonoles) y genisteína (isoflavona); aunque la genisteína y el kaemferol se presentaron en una sola muestra (hojas floración y hojas fructificación, respectivamente).

La quercetina, aunque fue más común, se presentó en menor concentración que la genisteína, que sólo se reportó para una sola muestra, igual que el kaemferol, aunque este último está presente a una concentración intermedia.

Quercetina también se ha reportado numerables veces en otras especies de Myrtácea como *Psidium* sp. (Guayaba) o *Eugenia* sp. (Arazá), y muchas veces se ha denominado a este compuesto como el responsable de la acción terapéutica de estas plantas. Al parecer, en el camu camu no sería diferente.

## 5. CONCLUSIONES

1. El tamizaje fitoquímico de las hojas y corteza de Camu camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. Mc Vaugh) reveló la presencia de siete grupos de metabolitos secundarios: Quinonas, lactonas sesquiterpénicas, compuestos grasos (aceites esenciales), azúcares reductores, saponinas, taninos y flavonoides. Estos metabolitos estuvieron presentes en las tres etapas fenológicas de la planta.
2. El rendimiento de aceites esenciales de las hojas de camu camu (*Myrciaria dubia*) fue bajo en comparación a otras especies de Myrtaceae como eucalipto (*Eucalyptus globulus*) o guayaba (*Psidium guajava*).
3. La caracterización de flavonoides identificó tres de importancia medicinal: Quercetina, genisteína y kaemferol. La quercetina se presentó en ambas muestras, hojas y corteza (isómero) en las tres etapas fenológicas; mientras que la genisteína sólo en las hojas de floración pero en mayor concentración que la quercetina. El kaemferol sólo se halló en las hojas de fructificación.
4. Los compuestos fenólicos, principalmente el flavonoide quercetina, serían los responsables de la acción terapéutica de las hojas y la corteza.
5. La prueba de espuma realizada en el tamizaje fitoquímico reveló buena presencia de saponinas en ambas muestras; lo que podría aprovecharse para la fabricación de jabones, cremas, champús, etc., de manera artesanal o industrial.

## **6. RECOMENDACIONES**

- 1.** Realizar nuevos tamizajes fitoquímicos para corroborar la influencia de las horas del día en la presencia o ausencia y concentración de los diferentes metabolitos secundarios.
- 2.** Profundizar estudios sobre los rendimientos y concentraciones de los metabolitos secundarios identificados en la presente investigación, como por ejemplo los aceites esenciales o las saponinas, pues de ello dependerá si vale la pena o no su aprovechamiento por parte de la industria o la medicina.
- 3.** Efectuar estudios de investigación fitoquímica con otras partes de la planta, como las raíces y las semillas.
- 4.** Corroborar con técnicas más sofisticadas la presencia y concentración de los tres flavonoides identificados en la presente tesis: Quercetina, kaemferol y genisteína.
- 5.** Profundizar los estudios de investigación fitoquímica en éste y otros frutales nativos de nuestra Amazonía, especialmente Camu camu arbóreo (*Myrciaria sp.*), para de esta manera contar con una relación de “*marcadores químicos*” que permitan en el futuro identificar la procedencia o variedades de la planta a un nivel químico, y al mismo tiempo contar con un mayor número de grupos de metabolitos secundarios identificados que no pudieron ser evaluados en la presente tesis.

## ***BIBLIOGRAFÍA***

Amstrong, F; Bennet, T. 1982. Bioquímica. Barcelona, ES, Editorial Reverte. 550 p.

AOAC International, EU. 2005. Oficial Methods of Analysis. 18 ed USA. 51 cap.

Argimón y Trigo. ES. s.f. Flora ornamental española (en línea). ES. Consultado 15 abr. 2009. Disponible en [www.arbolesornamentales.com/glosario.htm#P](http://www.arbolesornamentales.com/glosario.htm#P)

Ascuña, M.; Lira, J. y Mourão, P. 1997. Proyecto de Pre-factibilidad para la producción de pulpa de Camu camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. Mc Vaugh) en Pucallpa. **Ciclo Optativo (Ing. Forestal). Lima, Perú.**

Boccia, L.; Nogueira, J.; Carbonari, K.; Pedrosa, R.; Felicio, J.; Gonzales, E.; Rossi, M. Evaluación fitoquímica de una fracción antioxidante de extracto etanólico de las hojas de *Marlierea obscura* (Myrtaceae) (en línea). Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal. Consultado 20 jun. 2006. Disponible en [http://www.biologico.sp.gov.br/ARQUIVOS/V71\\_supl\\_cicam/35.pdf](http://www.biologico.sp.gov.br/ARQUIVOS/V71_supl_cicam/35.pdf)

Brack, A. 1999. Diccionario Enciclopédico de plantas útiles del Perú. Lima, PE: PNUD, CBC. 550 p.

Bruneton, J. 2001. Farmacognosia, fitoquímica, plantas medicinales. Zaragoza, ES, Editorial ACRIBIA S.A. 2da. ed. 1099 p.

Chávez Flores, W. 1993. Camu camu. En Clay, J. y Charles Clement. Selected species and strategies to enhance income generation from Amazonian Forest. Roma, IT: FAO. p. 139-146.

Delgado, C.; Couturier, G. 2004. Manejo de insectos plagas en la Amazonía: Su aplicación en Camu camu. Iquitos, PE: IIAP, IRD. 152 p.

Domínguez, X. 1973. Métodos de Investigación Fitoquímica. Lima, PE, Editorial Limusa S.A. 281 p.

- Flores, S. 1997. Camu camu. En Flores, S. eds. Cultivo de frutales nativos amazónicos, Manual para el Extensionista. Lima, PE: TCA. p. 57-65.
- García, J. 2006. Breves apuntes sobre productos naturales y plantas medicinales. Pinar del Río, CU: Universidad Hermanos Saíz Montes de Oca. 191 p.
- Gómez-Jarabo, G. 2001. Vitamina C: Ácido ascórbico (en línea). ES. Consultado 15 abr. 2009. Disponible en [http://www.biopsicologia.net/fichas/page\\_1080.html](http://www.biopsicologia.net/fichas/page_1080.html)
- Huamaní, M.; Ruiz, J. 2005. Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de tres departamentos del Perú. Tesis (Químico Farmacéutico). Lima, PE. UNMSM.
- IIAP (Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana), PE. 2001. Sistema de producción de Camu camu en restinga. Iquitos, PE. 141 p.
- INDECOPI (Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual), PE. 2004. Norma Técnica Peruana 251.010-2004: Madera. Método para determinar el contenido de humedad. Perú: Comisión de Reglamentos Técnicos y Comerciales-INDECOPI. 13 p.
- Inga, H.; Pinedo, M.; Delgado, C.; Linares, C.; Mejía, K. 2001. Fenología reproductiva de *Myrciaria dubia* Mc Vaugh (H.B.K.) Camu camu (en línea) Folia Amazónica Vol. 12 (1-2)-2001. Consultado 20 jul. 2006. Disponible en <http://www.iiap.org.pe/publicaciones/folias/folia12/articulo%206%20folia%2012.pdf>
- Lock de Ugaz, O. 1988. Investigación fotoquímica, Métodos en el estudio de productos naturales. Lima, PE, Fondo editorial de la Pontificia Universidad Católica. 213 p.
- Marquina, V.; Araujo, L.; Ruíz, J.; Rodríguez-Malaver, A., Vit, P. 2008. Composición química y capacidad antioxidante en fruta, pulpa y mermelada de guayaba (*Psidium guajava* L.) (en línea). Mérida -Venezuela, Universidad de los Andes. Consultado 12 ago. 2008. disponible en [http://alanrevista.com/ediciones/2008-1/composicion\\_quimica\\_capacidad\\_antioxidante\\_guayaba.asp](http://alanrevista.com/ediciones/2008-1/composicion_quimica_capacidad_antioxidante_guayaba.asp)

- Neira, A.; Ramirez, M.; Sánchez, M. 2005. Estudio fitoquímico y actividad antibacteriana de *Psidium guineense* Sw (choba) frente a *Streptococcus mutans*, agente causal de caries dentales. **Revista cubana de plantas medicinales**, 10 (3-4).
- OMS (Organización Mundial de la Salud). 1998. Quality control methods for medicinal plant materials. CH. 122 p.
- OET (Organización para Estudios Tropicales), CR: 2002. Glosario de Botánica (en línea). CR. Consultado 29 set. 2008. Disponible en <http://www.ots.ac.cr>
- Payo, A.; Oquendo, M.; Oviedo, R. 1997. Tamizaje fitoquímico preliminar de plantas que crecen en Holguín (en línea). Revista cubana farmacéutica n° 30 (2). Consultado 14 ago. 2008. Disponible en [http://www.bvs.sld.cu/revistas/far/vol30\\_2\\_96/far06296.htm](http://www.bvs.sld.cu/revistas/far/vol30_2_96/far06296.htm)
- Penn, J. 2006. The cultivation of Camu camu (*Myrciaria dubia*): A tree planting programme in the Peruvian Amazon. **Forest, Trees and Livelihoods**, 16 (85 – 101).
- Pinedo, M.; Linares, C.; Mendoza, H.; Anguiz, R. 2004. Plan de mejoramiento genético del Camu camu. PE: IIAP. 23 p.
- PROAPA-GTZ (Proyecto Asesoría en Planeación Agraria) – Oficina de Planificación Agraria, Ministerio de Agricultura. PE. 2000. Estudio de mercado para *Myrciaria dubia* H.B.K. Mc Vaugh (camu camu). Lima, PE. 46 p.
- Pscheidt, J. EU. 2009. An online guide to Plant disease control (en línea). Oregon State University Extension. EU. Consultado 19 jul. 2009. Disponible en <http://www.plant-disease.ipcc.orst.edu/disease.cfm?RecordID=1156>
- Rashed, M. s.f. Phytopathological note. *Pestalotia* sp. on date palm leaves in Egypt (en línea). Consultado 19 jul. 2009. Disponible en [http://docs.google.com/gview?a=v&q=cache:firZ0LiVjAcJ:www.pubhort.org/datepalm/datepalm2/datepalm2\\_47.pdf+pestalotia+sp&hl=es&gl=pe](http://docs.google.com/gview?a=v&q=cache:firZ0LiVjAcJ:www.pubhort.org/datepalm/datepalm2/datepalm2_47.pdf+pestalotia+sp&hl=es&gl=pe)



- Suárez, M. 1995. Inhibición de xantina oxidasa (xo) por extractos de plantas de la familia Myrtaceae en Ecuador. En IV Congreso Italo-Latinoamericano de Etnomedicina “Felipe Fontana” (1995, Ecuador) Memoria. Ecuador.
- Taylor, L. 2005. The healing power of the rainforest herbs, A guide to understanding and using herbal medicinals. USA, SquareOne Publishers. 519 p.
- Torres, A.; Ricciardi, G.; Agrelo de Nasiff, A.; Ricciardi, A. s.f.a. Estudio comparativo de aceites esenciales de especies de *Psidium* (Myrtaceae) del Nordeste. AR: Universidad Nacional del Nordeste. 4 p.
- \_\_\_\_\_. s.fb. Estabilidad fitoquímica de *Psidium guajava* (Myrtaceae) en la provincia de Corrientes. AR: Universidad Nacional de Nordeste. 3 p.
- Valencia, C. 1995. Fundamentos de Fitoquímica. MX, Editorial Trillas S.A. 235 p.
- Vargas, D.; Soto, M.; Gonzáles, V.; Engleman, E.; Martínez, Á. 2005. Variación del contenido de flavonoides en hojas de guayaba bajo condiciones de estrés. **Revista Chapingo – Serie Horticultura**, MX. vol. II – 1 (89 – 92).
- Vásquez, A. 2000. El camu camu: cultivo, manejo e investigaciones. PE. 218 p.
- Villachica, H. 1996. El cultivo del Camu camu (*Myrciaria dubia* HBK Mc Vaugh) en la Amazonía peruana. Lima, PE: TCA. 84 p.
- \_\_\_\_\_; Lazarte J.; Clavo, M.; Lescano, C., Arroyo, M.; Díaz, I. 1998. Productos amazónicos del Perú: palmito, camu camu y uña de gato. Pucallpa, PE: CODESU. 144 p.
- Villegas, P. 2006. Productor de Camu camu del distrito de Yarinacocha (entrevista) Pucallpa, PE.
- Vit, P. 1993. Observaciones bromatológicas de los flavonoides. Cuadernos de Ciencias de los alimentos N° 2. Mérida, VE, Editorial Venezolana C.A.

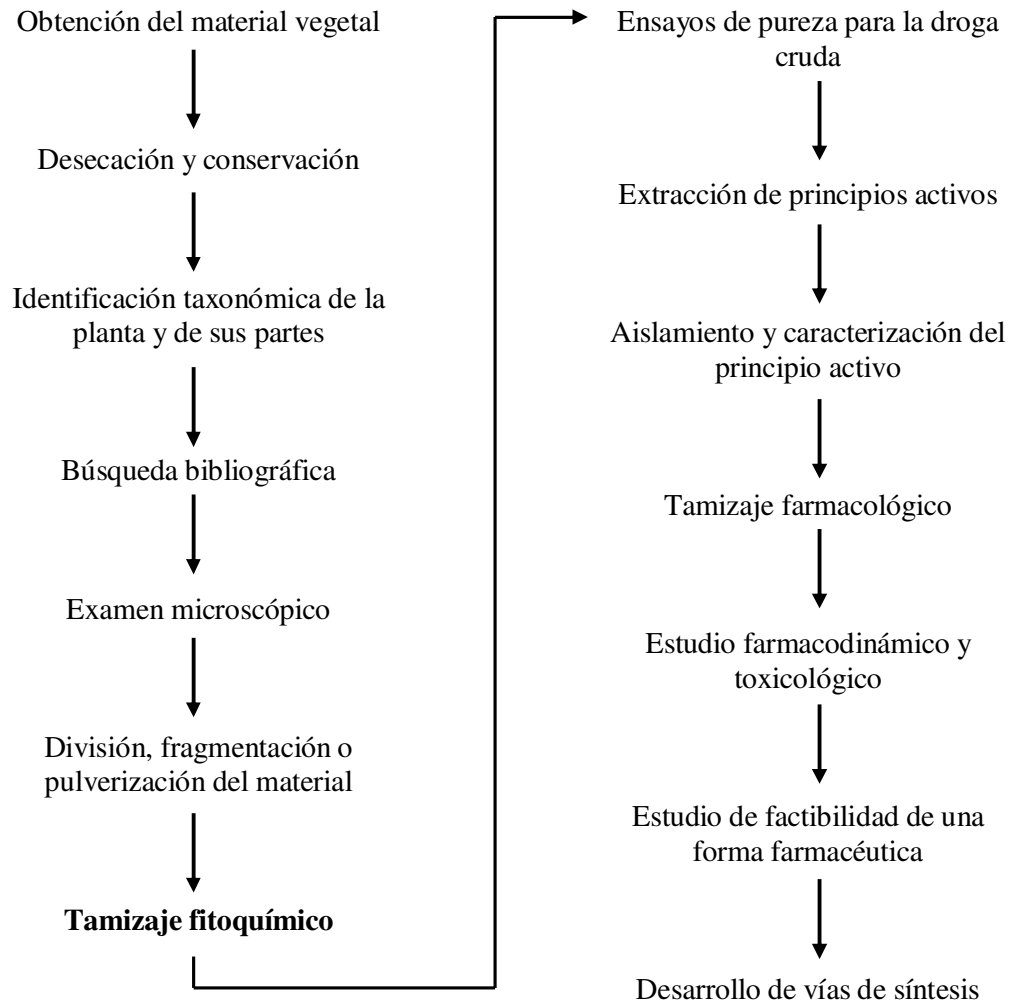
Vitamina C, AR. 2000. (en línea). AR. Consultado 15 abr. 2009. Disponible en <http://www.nutrinform.com/pagina/info/vitc0.html>

Watson, L. y M.J. Dallwitz. DE. 2000. Myrtaceae Juss. En: The families of flowering plants: Descriptions, illustrations, identification and information retrieval (en línea). DE. Consultado 3 ago. 2006. Disponible en <http://www.biologie.uni-hamburg.de/b-online//delta/angio/www/myrtacea.htm>

Yague, A.; Gaviña, M.; Torner, J. 1969. Los taninos vegetales. Madrid, ES. Ministerio de Agricultura. Dirección general de caza y pesca fluvial. Instituto Forestal de Investigación y Experiencias.

## ANEXO 1

### SECUENCIA DE INVESTIGACIÓN FITOQUÍMICA



FUENTE: García (2006)

## ANEXO 2

### PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS A UTILIZAR EN EL TAMIZAJE FITOQUÍMICO

1. Reactivo de Dragendorff:

Solución *a*: 8 g  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ /20 mL  $\text{HNO}_3$

Solución *b*: 27.2 g KI/50 mL  $\text{H}_2\text{O}$

Mezclar, reposar, decantar supernadante. Diluir a 100mL.

2. Reactivo de Mayer:

Solución *a*: 1.36g  $\text{HgCl}_2$ /60 mL  $\text{H}_2\text{O}$

Solución *b*: 5 g KI/10 mL  $\text{H}_2\text{O}$

Mezclar y diluir a 100 mL.

3. Reactivo de Wagner:

1.27 g de  $\text{I}_2$  + 2g KI/5mL  $\text{H}_2\text{O}$

Diluir a 100 mL.

4. Reactivo de Baljet:

Solución *a*: 1 g ácido pícrico/EtOH 95%

Solución *b*: 10 g NaOH/100 mL  $\text{H}_2\text{O}$

Mezclar ambas soluciones

5. Reactivo de Fehling:

Solución *a*: 35 g  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ /500 mL  $\text{H}_2\text{O}$

Solución *b*: 175 g sal de Rochelle + 50 g NaOH/500 mL  $\text{H}_2\text{O}$

FUENTE: Lock (1988)

## ANEXO 3

### RESULTADOS DE LOS ENSAYOS DE HUMEDAD

a) Humedad gravimétrica:

Muestra	# Caps.	% H	% H prom.
Hojas floración	1	11.49	11.5
	2	11.46	
	3	11.53	
Hojas Fructificación	1	13.31	13.1
	2	12.97	
	3	12.95	
Hojas dormancia	1	11.40	11.5
	2	11.59	
	3	11.61	
Corteza floración	1	30.94	31.4
	2	31.90	
	3	31.39	
Corteza fructificación	1	16.08	16.1
	2	16.08	
	3	16.07	
Corteza dormancia	1	13.27	13.2
	2	13.16	
	3	13.21	

b) Humedad azeotrópica:

Muestra	% Humedad
Hojas floración	9.6
Hojas fructificación	11.9
Hojas dormancia	7.8

## ANEXO 4

### RESULTADOS DE LOS ENSAYOS DE CENIZAS

a) Cenizas totales:

Muestra	# Caps.	% C <sub>T</sub>	% C <sub>T</sub> prom
Hojas floracion	1	3.45	3.6
	2	3.82	
	3	3.46	
Hojas fructificacion	1	4.17	4.3
	2	4.44	
	3	4.38	
Hojas dormancia	1	5.83	5.8
	2	6.22	
	3	6.00	
Corteza floracion	1	6.76	6.5
	2	6.69	
	3	6.15	
Corteza fructificacion	1	6.92	6.6
	2	6.62	
	3	6.15	
Corteza dormancia	1	6.95	6.9
	2	6.87	
	3	7.03	

b) Cenizas solubles en agua:

Muestra	P. C <sub>T</sub> (g)	P. muestra (g)	P. C <sub>sH2O</sub> (g)	% C <sub>sH2O</sub>
H. floracion	0.0306	1.0022	0.0801	9.03
H. fructificacion	0.0422	1.1008	0.0511	5.37
H. dormancia	0.0631	1.1005	0.0929	9.15
C. floracion	0.0882	2.0914	0.1330	9.27
C. fructificacion	0.0568	1.1015	0.0661	7.15
C. dormancia	0.0656	1.1001	0.0673	7.00

c) Cenizas insolubles en HCl:

Muestra	P. Caps (g)	P. muestra (g)	P.C <sub>HCl</sub> (g)	% C <sub>HCl</sub>
H. floracion	19.5513	1.0022	-0.0142	0
H.fructificacion	16.4783	1.1007	-0.0026	0
H. dormancia	9.5213	1.1005	0.0132	1.3
C. floracion	16.3295	2.0757	0.0033	0.2
C.fructificacion	15.9190	1.1016	0.0062	0.7
C. dormancia	16.4687	1.1001	-0.0015	0

## ANEXO 5

### RESULTADOS PORCENTAJE DE SÓLIDOS TOTALES

Muestra	Grado Alcohol	Peso muestra (g)	Peso cápsula (g)	Sólidos totales (g)	Sólidos totales (%)
Hojas floración	30º	10.0077	43.2736	0.0320	1.7695
	50º	10.0137	43.6009	0.0354	1.9564
	<b>70º</b>	<b>10.0215</b>	<b>48.9479</b>	<b>0.0600</b>	<b>3.3133</b>
	90º	10.0053	48.9711	0.0592	3.2744
	Agua	10.0038	40.5354	0.0124	0.6860
Corteza floración	<b>30º</b>	<b>3.0029</b>	<b>15.1870</b>	<b>0.0390</b>	<b>9.4674</b>
	50º	3.0042	23.1416	0.0364	8.8325
	70º	3.0034	19.2510	0.0250	6.0679
	90º	3.0065	18.7512	0.0169	4.0976
	Agua	3.0069	20.2122	0.0250	6.0608
Hojas fructificación	30º	10.0002	16.8273	0.0502	2.9081
	<b>50º</b>	<b>10.0005</b>	<b>18.9603</b>	<b>0.0590</b>	<b>3.4177</b>
	70º	10.0003	23.2427	0.0576	3.3367
	90º	10.0005	20.3749	0.0468	2.7110
	Agua	10.0005	15.1517	0.0331	1.9174
Corteza fructificación	30º	10.0013	18.9604	0.0413	2.4609
	<b>50º</b>	<b>10.0017</b>	<b>15.1517</b>	<b>0.0422</b>	<b>2.5145</b>
	70º	10.0011	20.3748	0.0316	1.8830
	90º	10.0016	16.8275	0.0175	1.0427
	Agua	10.0010	23.2425	0.0280	1.6685
Hojas dormancia	30º	10.0010	18.9601	0.0346	1.8766
	50º	10.0012	23.2424	0.0443	2.4026
	<b>70º</b>	<b>10.0012</b>	<b>20.3743</b>	<b>0.0474</b>	<b>2.5707</b>
	90º	10.0012	16.8269	0.0450	2.4406
	Agua	10.0012	15.1511	0.0251	1.3613
Corteza dormancia	30º	10.0018	16.5357	0.0994	5.7248
	<b>50º</b>	<b>10.0014</b>	<b>19.4050</b>	<b>0.1036</b>	<b>5.9669</b>
	70º	10.0016	23.2422	0.0768	4.4233
	90º	10.0014	16.8270	0.0563	3.2426
	Agua	10.0015	20.3745	0.0762	4.3887



## ANEXO 6

### RESULTADOS DETALLADOS DEL TAMIZAJE FITOQUÍMICO

a) FLORACIÓN:

Ensayo	HOJAS		CORTEZA	
	Reacción	Observaciones	Reacción	Observaciones
Dragendorff	+++		++	turbidez rojo ladrillo
Mayer	-	transparente	-	transparente
Wagner	+	amarillo intenso-naranja con puntitos	-	
Bornträger	+++	precipitado cristalino (tipo sal) en la parte inferior	++	2 fases: marrón (superior) - rojo
Baljet	+++	rojo sangre	+	residuos rojos
Sudán	+	escasas gotas muy diminutas	+	suspensiones rojizas
Fehling	+	precipitado amarillo como polen y unos precipitados rojos (3)	+++	precipitados rojos
Espuma	+++	espuma más de 2 cm por más de una hora	++	5 mm por más de 2 minutos
FeCl <sub>3</sub>	+++	Verde oscuro = Taninos condensados	+++	verde oscuro casi negro = Taninos condensados
Shinoda	+++	amarillo cristalino	+++	amarillo intenso
Molish	-	3 fases: anillo blanquecino con precipitado violeta, gotitas aceitosas rojas	+	precipitado (como gotitas) violetas en el anillo superior; cristalización de la fase inferior

b) FRUCTIFICACIÓN:

<u>Ensayo</u>	<u>HOJAS</u>		<u>CORTEZA</u>	
	<u>Reacción</u>	<u>Observaciones</u>	<u>Reacción</u>	<u>Observaciones</u>
Dragendorff	++	Turbidez	-	Formación de cristallitos blancos.
Mayer	+	Turbidez no muy definida	-	
Wagner	-		-	
Bornträger	++	2 fases: la superior es rojo-marrón (demoró un poco)	++	2 fases: coloración roja la superior (demoró un poco)
Baljet	++	Coloración rojo-marrón. Demoró en adquirir coloración.	+++	Reacción instantánea y espesa (precipitado coposo)
Sudán	+	Gota rosa ligeramente visible. Dio + a la prueba con éter.	+	Gota rosa ligeramente visible.
Fehling	+++		+++	
Espuma	+++	5 cm de espuma al momento del ensayo (11:30), 3cm al término de la práctica, a las 4:00 p.m.	+++	1.8 cm. de espuma
FeCl <sub>3</sub>	+++	Azul intenso al echar el reactivo, verde al adicionar el ácido	+++	Azul intenso al echar el reactivo, verde al adicionar el ácido
Shinoda	+++	2 fases: marrón claro la superior.	+++	2 fases: la superior amarillo tipo aceite
Molish	-		-	3 fases: burbujas violetas sin formar anillo - anillo blancuzco - fase clara como aceite.

c) DORMANCIA:

Ensayo	HOJAS		CORTEZA	
	Reacción	Observaciones	Reacción	Observaciones
Dragendorff	++	Precipitación y turbidez	-	se volvió rojo al calentar
Mayer	-		+	turbidez ligera
Wagner	-	Cambio de color de amarillo claro a color olivo.	-	
Bornträger	+++	2 fases: superior rojo-marrón como coca cola, la 2da más clara con manchas rojas.	+++	2 fases: superior rojo-marrón (coca cola); inferior clara transparente.
Baljet	+++	Marrón sangre	+++	Marrón sangre, coaguló casi al instante (solución muy espesa), precipitó con el tiempo.
Sudán	+++	Gota rosa altamente visible.	+	Gota rosa ligeramente visible.
Fehling	+++		+++	
Espuma	+++	4,1 cm de espuma al momento del ensayo (11:29 a.m)	+++	1.8 cm de espuma
FeCl <sub>3</sub>	+++	Verde-azul (oscuro) al inicio, verde oscuro después de HCl, verde claro a la hora de terminar el ensayo.	+++	Azul intenso al inicio; verde oscuro/azul con el HCl
Shinoda	+++	2 fases:marrón oscuro (superior), marrón claro la inferior.	+++	2 fases: superior clara-amarillo oliváceo; inferior espesa, amarillo aceite.
Molish	-	3 fases: rojiza con suspensiones (superior), fase clara (como sal) y amarillenta clara (inferior).	+++	3 fases: turbia (superior), anillo violáceo (medio), clara (muy pequeñita, casi al fondo del tubo). El anillo desapareció al rato y toda la solución quedó marrón oscuro al término de la práctica, como coca cola.

## *ANEXO 7*

### **RENDIMIENTO DE ACEITES ESENCIALES**

	<b>Floración</b>	<b>Fructificación</b>	<b>Dormancia</b>
P. muestra (g)	45.00	100.79	100.80
Vol. Agua (mL)	1000.00	1000.00	1000.00
Vol. Aceite (mL)	0.075	0.15	0.15
Rdmtó %	0.17	0.15	0.15

## ANEXO 8

### EJEMPLOS DE ESPECTRO OBTENIDOS CON EL ESPECTOFOTÓMETRO

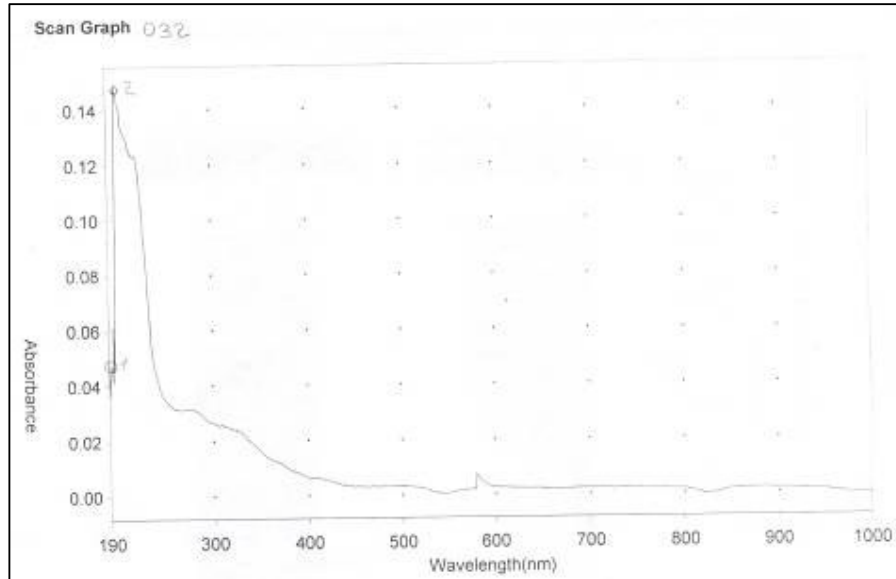


Figura 11. Espectro obtenido de la muestra de Hojas en floración.

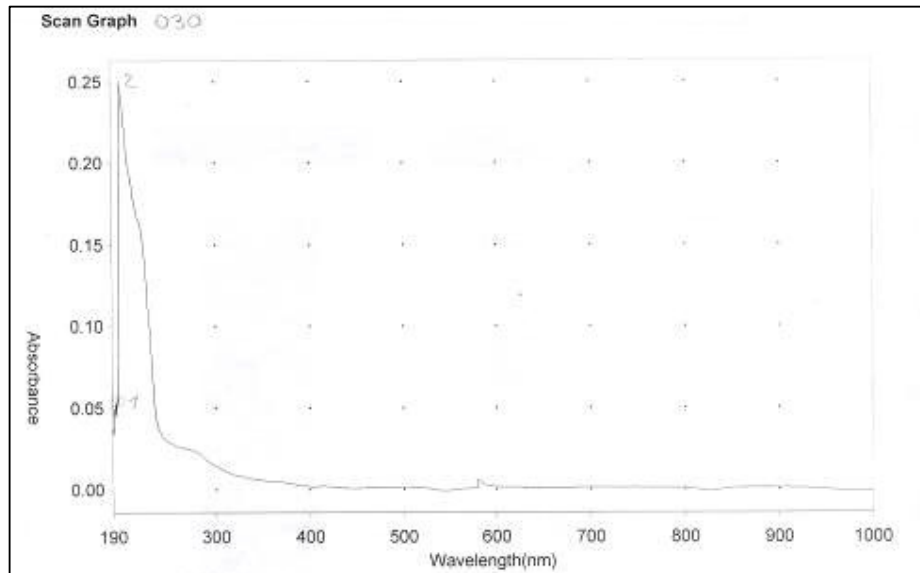


Figura 12. Espectro obtenido de la muestra de Corteza en floración.

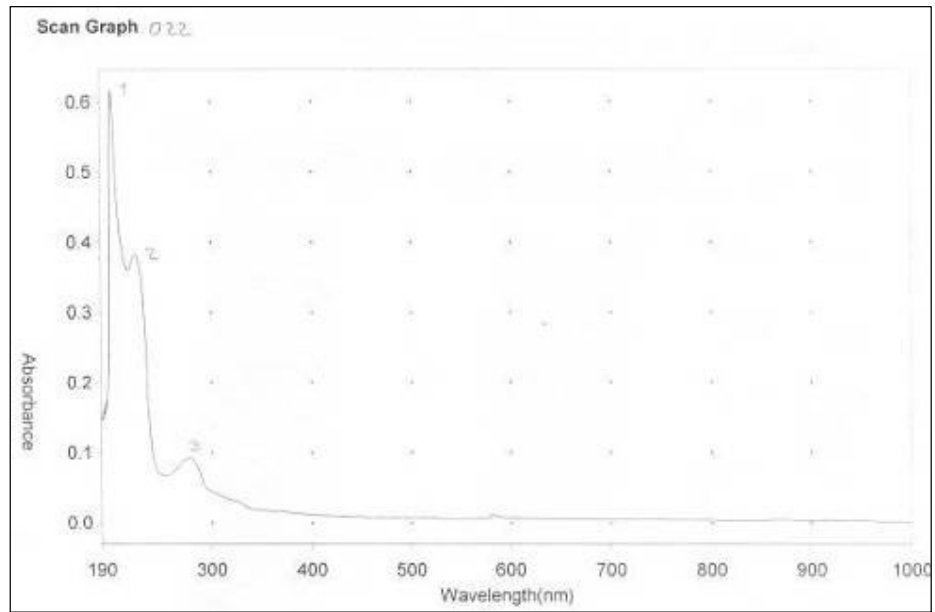


Figura 13. Espectro obtenido de la muestra de Hojas en fructificación.

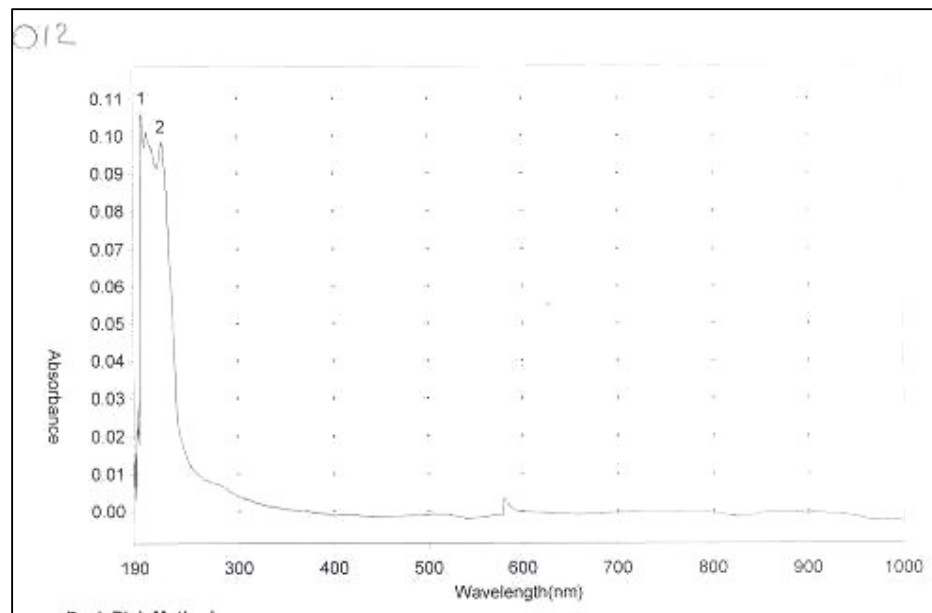


Figura 14. Espectro obtenido de la muestra de Corteza en fructificación.

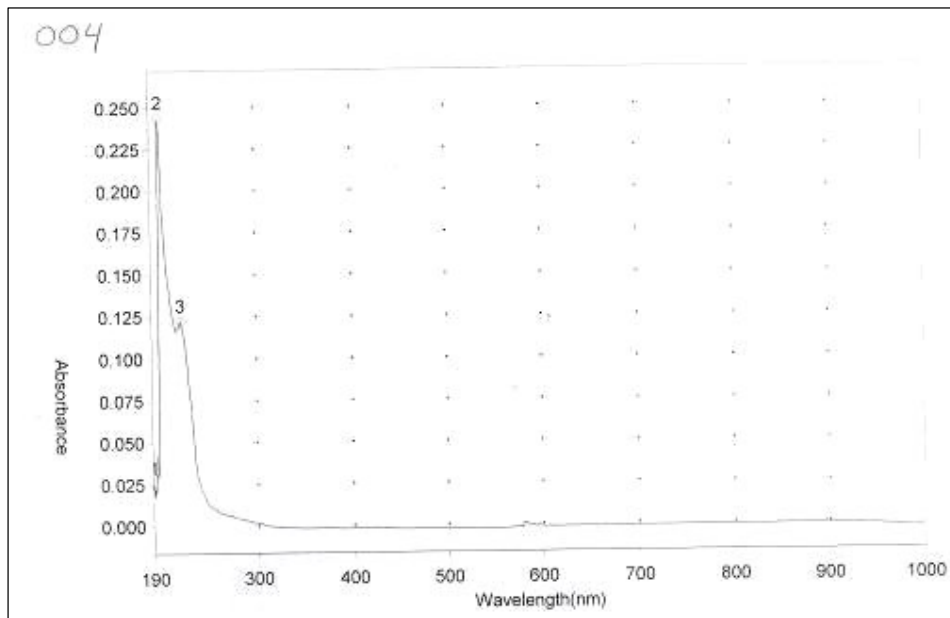


Figura 15. Espectro obtenido de la muestra de Hojas en dormancia.

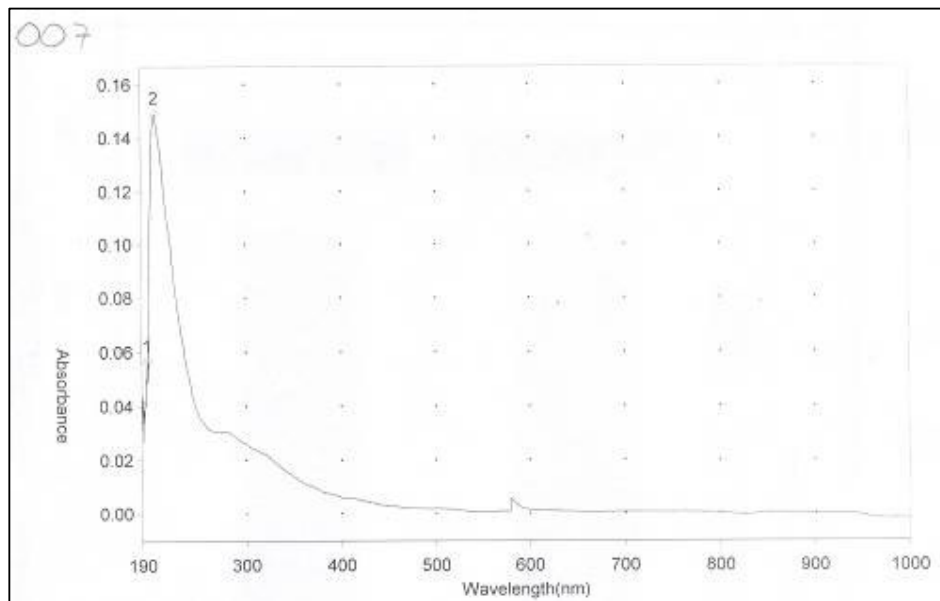


Figura 16. Espectro obtenido de la muestra de Corteza en dormancia.