

# Contenido de antocianinas totales en tejidos de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh (camu camu)

## Total anthocyanins content in tissues of *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh (camu camu)

Andry M. Mavila<sup>1</sup>, Jhon A. Vargas<sup>1</sup>, Jorge L. Marapara<sup>1</sup>, Sixto A. Imán<sup>2</sup> y Juan C. Castro<sup>3</sup>

Recibido: mayo 2016

Aceptado: junio 2016

### RESUMEN

*Myrciaria dubia* (camu camu) se caracteriza por presentar en sus diversos tejidos ácido L-ascórbico y polifenoles como las antocianinas; estos últimos compuestos han sido poco estudiados en esta especie. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue determinar el contenido de antocianinas totales en plántulas y en tres estados de maduración de los frutos de *M. dubia*. La extracción y cuantificación de antocianinas totales se realizaron con métodos estándares. Los resultados muestran que las concentraciones de antocianinas totales en los tejidos de las plántulas variaron de  $2,71 \pm 0,90$  mg/mL (hojas) a  $28,65 \pm 4,46$  mg/mL (plúmula). En tanto que, a nivel de los frutos se evidenció un incremento significativo en el contenido de antocianinas totales conforme estos maduraron. Específicamente, a nivel de la cáscara se mostró una mayor acumulación de antocianinas totales (aprox. de 6 a 15 veces) en comparación con la pulpa de los frutos. En conclusión, el contenido de antocianinas totales varía significativamente en los diferentes tejidos y durante el proceso de maduración de los frutos de *M. dubia*.

**Palabras claves:** antioxidantes, frutal nativo, plántulas, polifenoles.

### ABSTRACT

*Myrciaria dubia* (camu camu) is characterized by possesses L-ascorbic acid and polyphenols in its various tissues, such as anthocyanins, but the last compounds have been little studied in this species. Therefore, the objective of this research was to determine total anthocyanins content in seedlings and fruits in three stages of ripening. Extraction and quantification of total anthocyanins was achieve with standard methods. Results display that total anthocyanins concentrations in seedlings tissues ranged from  $2,71 \pm 0,90$  mg/mL (leaves) to  $28,65 \pm 4,46$  mg/mL (plumule). Whereas, fruits showed a significant increase in total anthocyanins content during ripening. Specifically, was registered a greater accumulation of total anthocyanins at the fruit peel (approx. 6 to 15 times) by comparing with fruit pulp content. In conclusion, total anthocyanins content differs significantly in different tissues and during the process of fruit ripening of *M. dubia*.

**Key words:** antioxidants, native fruit, seedlings, polyphenols.

### INTRODUCCIÓN

*Myrciaria dubia* (camu camu) es un arbusto nativo de la Amazonía que se caracteriza principalmente por sus frutos con alto contenido de ácido L-ascórbico (vitamina C) y polifenoles,

estos en conjunto contribuyen a la gran capacidad antioxidante que presentan estos frutos (Langley *et al.*, 2015). El creciente interés por los polifenoles y en particular por las antocianinas presentes en las plantas, se atribuye a los múltiples beneficios para la salud humana

<sup>1</sup> Unidad Especializada de Biotecnología (UEB). Centro de Investigaciones de Recursos Naturales de la Amazonía (Cirna). Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP). San Juan Bautista, Loreto, Perú.

<sup>2</sup> Área de Conservación de Recursos Fitogenéticos. Estación Experimental San Roque. Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA). San Juan Bautista, Loreto, Perú.

<sup>3</sup> UEB. Cirna. UNAP. Pasaje Los Paujiles s/n, Nuevo San Lorenzo, San Juan Bautista, Loreto, Perú. [juan.castro@unapikitos.edu.pe](mailto:juan.castro@unapikitos.edu.pe)

(Garzón, 2008). Las antocianinas son pigmentos naturales que imparten colores a las plantas para diversas funciones, se acumulan en mayor concentración en flores y frutas, pero también están presentes en hojas y tallos (Aguilera *et al.*, 2011). Son de gran importancia, debido a que constituyen uno de los grupos más significativos de antioxidantes naturales.

La variación registrada del contenido de antocianinas en frutos de *M. dubia* podría estar controlada por factores ambientales y genéticos (Aguilera *et al.*, 2011). Las plantas desarrollan mecanismos de respuestas frente a estímulos del ambiente, una parte de estas respuestas son constitutivas, pues dependen de su patrimonio genético particular, otras, en cambio, se manifiestan solo bajo condición inductiva particular (Benavides, 2009). Entre los sistemas de respuesta, se encuentra la síntesis de antioxidantes, que cumple funciones importantes como atrapadores de radicales libres, estabilizadores y protectores del ADN y reacciones de óxido-reducción las cuales cambian el estado reactivo de los metales a una forma menos tóxica (Ortega *et al.*, 2003). En efecto, si los antioxidantes cumplen tales funciones, su presencia en mayor o menor concentración podría cambiar el programa de desarrollo de la planta.

Consecuentemente, para comprender en parte estos importantes procesos fisiológicos, el objetivo de este trabajo fue determinar el contenido de antocianinas totales en plántulas y en tres estados de maduración de los frutos de *M. dubia*.

## MATERIAL Y MÉTODO

### Material botánico

Los frutos verdes, pintones y maduros fueron obtenidos al azar de tres plantas de *M. dubia* pertenecientes a la Colección Nacional de Germoplasma, Campo Experimental El Dorado,

Estación Experimental Agraria San Roque - Loreto del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), ubicado en el kilómetro 25,5 de la carretera Iquitos-Nauta (3°57'22,95"S y 73°24'46,91"O). El material fue etiquetado y transportado inmediatamente en condiciones de refrigeración y protegido de la luz hasta la Unidad Especializada de Biotecnología (UEB), Centro de Investigaciones de Recursos Naturales de la Amazonia (Cirna), situado en pasaje Los Paujiles s/n, Nuevo San Lorenzo, San Juan Bautista, Loreto, Perú.

### Germinación y crecimiento inicial

Las semillas de cincuenta frutos maduros fueron escarificadas mediante un raspado con bisturí en el área del embrión para acelerar el proceso de germinación. Luego, fueron puestas entre dos capas de gasa empapadas con agua destilada y transferidas a un recipiente de plástico. Fueron mantenidas a  $\sim 30 \pm 2$  °C, 92% de humedad relativa y en oscuridad; bajo estas condiciones se observó la emergencia de la radícula en la segunda semana, a partir de la tercera semana se presenció la plúmula y a la quinta semana se formaron las primeras hojas. A partir de la décima semana de incubación se obtuvieron las plántulas.

### Procesamiento inicial de las muestras botánicas

Los diferentes tejidos de las plántulas y frutos en diferentes estados de maduración fueron lavados exhaustivamente con agua destilada. Luego, en el caso de los frutos, se separó la cáscara de la pulpa empleando una cuchilla plástica para minimizar su oxidación.

### Extracción y cuantificación de antocianinas totales

Estos procedimientos se hicieron de acuerdo con Page *et al.* (2012), brevemente consistió en

lo siguiente: cien miligramos de la muestra vegetal fue transferida a un mortero frío, se agregó 800  $\mu\text{L}$  de tampón de extracción (400  $\mu\text{L}$  de tampón A [ácido metafosfórico 3%, ácido acético 8%] y 400  $\mu\text{L}$  de tampón B [EDTA 0,6%]) y se procedió a homogenizar completamente (aprox. 2 min de trituración). El homogenizado fue transferido a un microtubo de 1,5 mL y centrifugado a 20 000  $\times g$  por 10 min a 4 °C. El sobrenadante, el cual contiene las antocianinas totales, fue transferido a un nuevo microtubo y se procedió a leer la absorbancia (A) de las muestras a 530 y 657 nm ( $A_{530}$  y  $A_{657}$ ) en un espectrofotómetro UV/Visible Spectronic™ GENESYS™ 6. Finalmente, para cuantificar las antocianinas totales de las muestras se empleó la siguiente ecuación:

$$c(\text{mg/L}) = \frac{(A_{530} - A_{657})(PM)(1000)}{\epsilon}$$

Donde:

PM = peso molecular de la cianidina-3-glucósido (449,2 g/mol)

$\epsilon$  = coeficiente de extinción molar de la cianidina-3-glucósido ( $\epsilon = 24\,825 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ )

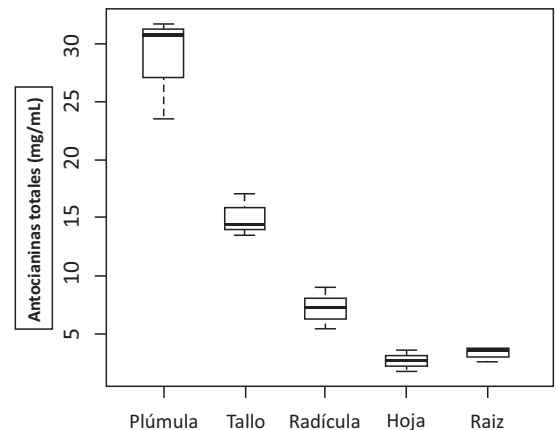
### Análisis estadísticos

Los datos obtenidos fueron almacenados en una hoja de cálculo de Microsoft® Excel 2016. El archivo fue guardado con formato CSV (delimitado por comas) para su posterior procesamiento estadístico. Los análisis estadísticos (promedios, error estándar de la media, ANOVA y HSD de Tukey) se realizaron empleando el programa R v 3.0.0 (R Core Team, 2013).

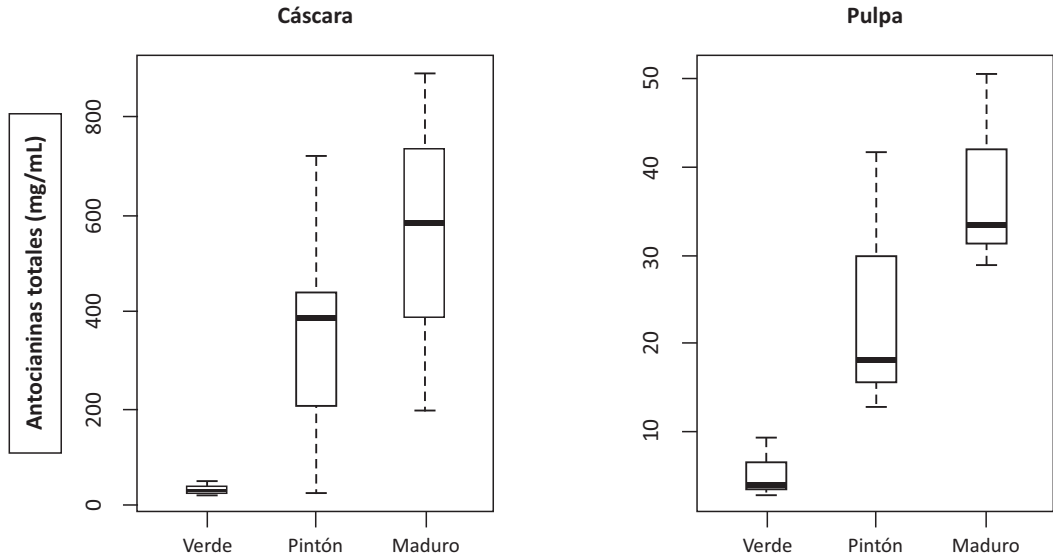
### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido de antocianinas totales mostró diferencias estadísticas significativas ( $F = 63,233$ ;  $gl = 4$ ;  $P < 0,001$ ) entre los diferentes tejidos de las etapas iniciales de germinación y en plántulas de *M. dubia* (figura 1). De los tejidos analizados, las hojas de las plántulas presentaron los niveles más bajos de antociani-

nas totales ( $2,71 \pm 0,90 \text{ mg/mL}$ ), en contraste, la plúmula resaltó por el mayor contenido ( $28,65 \pm 4,46 \text{ mg/mL}$ ). En tanto, los otros tejidos analizados presentaron valores intermedios a los indicados. Estos resultados son similares a los reportados previamente por Castro *et al.* (2013), quienes también registraron una alta acumulación de antocianinas totales en la plúmula de *M. dubia*, sugiriéndoles que estos polifenoles pueden cumplir roles claves en estas etapas iniciales, las que se caracterizan por altas tasas de división celular mitótica, diferenciación celular y elevada actividad metabólica. En concordancia a lo hipotetizado, Garzón (2008) indica que las antocianinas debido a su acción antioxidante actúan como sumideros de radicales libres generados de manera abundante en tejidos con alta actividad metabólica, así una mayor tasa de biosíntesis y acumulación de antocianinas asegura la protección de moléculas como los fosfolípidos, proteínas y ácidos nucleicos, consecuentemente, asegurando la viabilidad de las células. Además, cabe indicar que la acumulación de antocianinas totales en las etapas de germinación y crecimiento iniciales, los cuales fueron realizadas en total oscuridad, sugiere que no es esencial la presencia de radiación solar para la síntesis de antocianinas, lo cual contrasta con lo manifestado por Wang y Lin (2000).



**Figura 1.** Contenido promedio de antocianinas totales en diferentes tejidos de las etapas iniciales de germinación y en plántulas de *M. dubia*.



**Figura 2.** Contenido de antocianinas totales en la cáscara y pulpa de frutos en diferentes estados de maduración de *M. dubia*.

También, el contenido de antocianinas totales en la cáscara y pulpa de tres etapas de maduración de los frutos de *M. dubia* (figura 2) mostraron diferencias estadísticas significativas ( $F = 4,894$ ;  $gl = 5$ ;  $P < 0,05$ ). Fue común observar un mayor contenido de antocianinas totales en la cáscara con respecto a la pulpa (aprox. de 6 a 15 veces). Asimismo, fue evidente una mayor acumulación en los frutos maduros que en las otras dos etapas de maduración (verdes y pintones). Estos resultados coinciden a los reportados por Villanueva *et al.* (2010), quienes demuestran una mayor concentración de antocianinas en la cáscara de frutos maduros, principalmente de la cianidina-3-glucósido (46,42 mg/L). Similarmente, Castro *et al.* (2013) también indican mayor acumulación de antocianinas totales y específicamente de la cianidina-3-glucósido en la cáscara de frutos maduros de *M. dubia*. Adicionalmente, es preciso señalar que en las plantas la biosíntesis y acumulación de los polifenoles en general y de

las antocianinas en particular, pueden ser una consecuencia de respuesta a factores bióticos y abióticos estresantes (Benavides *et al.*, 2009; Núñez *et al.*, 2010; Mouradov y Spangenberg, 2014). Finalmente, la variación de las antocianinas en general puede atribuirse a factores como su misma estructura química, pH, concentración, temperatura, presencia de oxígeno y ácido L-ascórbico (Benavides *et al.*, 2002).

## CONCLUSIÓN

El contenido de antocianinas totales varía significativamente en los diferentes tejidos y durante el proceso de maduración de los frutos de *M. dubia*.

## AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana por el financiamiento de la presente investigación que concluyó en febrero de 2016.

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Aguilera M, Reza MC, Chew RG, Meza JA. 2011. Propiedades Funcionales de las Antocianinas. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*. 13 (2):16-22.
- Benavides A. 2009. Temas Modernos de Nutrición Vegetal. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. Texcoco, México. Pp. 214.
- Benavides A, Ramírez H, Robledo V, Fuentes LO. 2009. Antioxidantes en las plantas: algunos factores edáficos y ambientales que los modifican. *Temas Modernos de Nutrición Vegetal*. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C. Texcoco, México. Pp. 13-26.
- Benavides A, Ramírez H, Robledo V. 2002. Ecofisiología y bioquímica del estrés en plantas. Universidad Autónoma Agraria Narro Buenavista, Saltillo, México. Pp. 228.
- Castro JC, Gutiérrez F, Acuña C, Gutiérrez C, *et al.* 2013. Variación del contenido de vitamina C y antocianinas en *Myrciaria dubia* «camu camu». *Rev Soc Quím Perú*. 79 (4):319-330.
- Garzón GA. 2008. Anthocyanins as natural colorants and bioactive compounds: A Review. *Acta Biológica Colombia*. 13(3):27-36.
- Langley PC, Pergolizzi JV, Taylor R, Ridgway C. 2015. Antioxidant and associated capacities of camu camu (*Myrciaria dubia*): A Systematic Review. *Altern Complement Med*. 21(1):8-14.
- Mouradov A, Spangenberg G. 2014. Flavonoids: A metabolic network mediating plants adaptation to their real estate. *Front Plant Sci*. 5:620.
- Núñez M, Mazorra LM, Martínez L. 2010. Los brasinoesteroides y las respuestas de las plantas a estrés abióticos: Una visión actualizada. *Cultiv Trop*. 31(2):56-65.
- Ortega H, Benavides A, Roberto A, Zermeño A. 2003. Fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados. Centro de Investigación en Química Aplicada México. P. 150.
- Page M, Sultana N, Paszkiewicz K, Florance H, Smirnoff N. 2012. The influence of ascorbate on anthocyanin accumulation during high light acclimation in *Arabidopsis thaliana*: further evidence for redox control of anthocyanin synthesis. *Plant Cell Environ*. 35(2):388-404.
- R Core Team. 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
- Villanueva JE, Condezo LA, Asquiere ER. 2010. Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante, en la cáscara de camu camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh]. *Food Sci Technol Camp*. 30 (Supl. 1):151-160.
- Wang SY, Lin HS. 2000. Antioxidant Activity in Fruits and Leaves of Blackberry, Raspberry, and Strawberry Varies with Cultivar and Developmental Stage. *J Agric Food Chem*. 48(2):140-146.