

Trabajos Originales

Propiedades prooxidantes del camu camu (*Myrciaria dubia*) *

Henry Guija ¹, Luzmila Troncoso ², Emilio Guija ³

Resumen

Objetivo: Determinar el efecto del ion férrico sobre las propiedades prooxidantes del camu camu (Myrciaria dubia). Diseño: Estudio analítico, experimental, prospectivo y longitudinal. Materiales y Métodos: Se ha evaluado las propiedades prooxidantes del camu camu (Myrciaria dubia), fruto caracterizado por tener un elevado contenido de vitamina C, frente a Fe(III), etilendiamino tetraacético (EDTA), tiourea y manitol. Resultados: El camu camu en presencia de Fe-III en tampón fosfato a pH 7,4 incrementó notablemente la generación de radicales libres a través de una cinética de saturación, efecto que fue dependiente de la concentración del metal. La presencia de tiourea o manitol, compuestos de conocida acción antioxidante, inhibieron la formación de radicales libres, en cambio el EDTA lo incrementó. Conclusión: El camu camu incrementa la generación de radicales libres en presencia de Fe(III) y EDTA.

Palabras clave

Antioxidantes; oxidantes; radicales libres; ácido ascórbico; hierro, iones de; Camu camu.

Prooxidant properties of camu camu (*Myrciaria dubia*)

Abstract

Objective: To determine the effect of ferric ion on the prooxidant properties of camu camu (Myrciaria dubia). Design: Analytic, experimental, prospective, and longitudinal study. Materials and Methods: Camu camu (Myrciaria dubia) is a fruit characterized for its high vitamin C content. The prooxidant properties of camu camu by the effect of Fe(III), EDTA, thiourea and mannitol was determined. Results: A mixture of camu camu and Fe-III in phosphate buffer at pH 7,4 notoriously increased the generation of free radicals by kinetic saturation mechanism. This effect depended on metal concentration. The presence of thiourea or mannitol, components with known antioxidant action, inhibited free radicals generation, while EDTA increased free radical formation.

Conclusion: Camu camu increases free radicals generation in the presence of Fe(III) and EDTA.

Keywords: Antioxidants; oxidants; free radicals; ascorbic acid; iron, ions of; Camu camu.

INTRODUCCIÓN

Diversas evidencias muestran que el estrés oxidativo contribuye con el proceso de envejecimiento y con la patogénesis de enfermedades crónicas, como cáncer, diabetes mellitus, aterosclerosis, etc. ⁽¹⁾. Así mismo, se ha observado que el consumo de frutas y verduras está vinculado con una baja incidencia de estas enfermedades. Ello sugiere que la dieta juega un papel muy importante en el desarrollo de estas enfermedades, por cuyo motivo, diversas entidades de reconocido prestigio recomiendan su ingesta ⁽¹⁻⁴⁾.

El estrés oxidativo es una condición en la que las sustancias oxidantes tienen predominio

* El presente trabajo es parte de la tesis para optar el título de Licenciado en Nutrición.

¹ Licenciado en Nutrición, egresado de la EAP de Nutrición. Facultad de Medicina, UNMSM. Lima, Perú.

² Profesora Principal de la Facultad de Medicina, UNMSM. Lima, Perú.

³ Profesor Cesante de la Facultad de Medicina, UNMSM. Lima, Perú.

sobre la defensa antioxidante del organismo humano. Los compuestos oxidantes son los radicales libres que químicamente corresponden a moléculas que tienen uno o más electrones desapareados, hecho que los torna en compuestos de elevada reactividad por la necesidad de aparear su electrón (⁵⁻⁸).

Aproximadamente, 2% del oxígeno de la respiración se transforma en el anión superóxido mediante una reducción univalente que ocurriría en el complejo I (⁹) y en el complejo III (¹⁰) mitocondrial; el anión superóxido generado posee un electrón desapareado y no está en capacidad de salir de la mitocondria, debido a que la membrana interna de la mitocondria es impermeable a este radical. Otra de las fuentes de radicales libres en una célula ocurre por acción de las monooxigenasas de función mixta del retículo endoplásmico dependientes del citocromo P-450, la xantina oxidasa que puede reducir directamente el oxígeno molecular y formar anión superóxido y peróxido de hidrógeno. Por otro lado, cuando se activan las células fagocíticas, incrementan su consumo de oxígeno con la consecuente formación del anión superóxido; así mismo, los metales de transición, como el hierro y cobre pueden reaccionar con el ascorbato formando el radical hidroxilo (^{1,11,12}).

El anión superóxido es transformado por la superóxido dismutasa en oxígeno y peróxido de hidrógeno. Este último compuesto no es propiamente un radical libre, pero puede reaccionar con metales de transición y dar origen al radical hidroxilo, que es el radical más dañino en el ser humano, siendo su característica más relevante el ser poco selectivo, lo que le confiere la propiedad de reaccionar y dañar a las proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. El radical hidroxilo también puede generarse a través de la reacción entre el peróxido de hidrógeno y el ión cuproso o el ión ferroso. A estos radicales libres que derivan del oxígeno se les denomina más apropiadamente 'especies reactivas de oxígeno' (ERO), para diferenciarlas de las 'especies reactivas de nitrógeno' (ERN), que comprenden al óxido nítrico y al dióxido nítrico.

El óxido nítrico se forma a partir de la L-arginina por acción de la enzima óxido nítrico sintasa, el dióxido nítrico se forma por reacción del radical peroxilo con el óxido nítrico, mientras que el peroxinitrito se genera a través de la reacción que ocurre entre el óxido nítrico y el anión superóxido (^{6,7,10,11,13}).

El ser humano dispone de varios compuestos que tienen la propiedad de ejercer una acción antioxidante; algunos de ellos son de naturaleza enzimática, como la catalasa, superóxido dismutasa, glutatión reductasa, etc., mientras que otros son de naturaleza no enzimática, como ácido úrico, glutatión, ferritina, transferrina, bilirrubina, ceruloplasmina, etc. Los compuestos anteriores constituyen la defensa antioxidante que el organismo es capaz de generar y que, al parecer, resulta ineficiente, por cuyo motivo es necesario que ingiera diariamente sustancias con capacidad antioxidante, como vitamina C, flavonoides, B-caroteno, vitamina E, etc. (^{1,5,6,11}).

Las plantas superiores tienen un alto contenido de antioxidantes, como vitamina C, vitamina E, B-caroteno, flavonoides, entre otros, compuestos que tienen la propiedad de reaccionar con radicales libres y evitar de esta manera el efecto nocivo que puedan causar a las células (¹¹⁻¹⁴). Los tocoferoles tienen la capacidad para proteger a los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares y de las LDL de la acción nociva de las especies reactivas de oxígeno. El α -tocoferol tiene la propiedad de reducir la concentración de dióxido de nitrógeno de una manera más eficiente que otros tocoferoles. Su acción está vinculada con la reducción de enfermedades cardiovasculares y prevención del cáncer (¹⁵).

Se ha descrito que el consumo de carotenoides está relacionado con la prevención de cataratas, aterosclerosis, degeneración muscular y esclerosis múltiple, así como, a una baja incidencia de cáncer de próstata (^{13,15,16}). La ingesta de licopeno y B-caroteno inhiben la oxidación de las LDL y de esta manera previene la formación de la placa ateromatosa (¹⁷); así mismo, protege la piel contra el efecto nocivo

de la radiación ultravioleta solar que en la epidermis puede inducir a la lipoperoxidación⁽¹³⁾.

Los compuestos polifenólicos constituyen un importante grupo de antioxidantes que comprende a los flavonoides, antraquinonas, cromonas, cumarinas y otros⁽¹⁸⁾. La ingesta de gínesteína proporciona una incrementada resistencia a la oxidación de las LDL, así como, inhibición de la formación de productos formados por lipoperoxidación⁽¹⁹⁾. El mecanismo de acción de los polifenoles está vinculado a su capacidad para donar hidrógeno y a su acción quelante de iones metálicos; la potente actividad antioxidante reside en sus estructuras químicas con un grupo o-difenólico, un doble enlace conjugado 2-3 y grupos hidroxilos en posiciones 3 y 5⁽¹⁸⁾, lo que los torna muy eficientes contra radicales hidroxilo y peroxilo.

El ácido ascórbico es un compuesto que tiene excelente acción reductora; cuando pierde un electrón, se convierte en el radical ascorbato, compuesto que tiene un electrón desapareado en un sistema-p altamente deslocalizado, por cuyo motivo es un radical libre muy poco reactivo, que lo convierte en un buen antioxidante⁽²⁰⁾. Su acción antioxidante reside en la capacidad para donar un átomo de hidrógeno a radicales lipídicos. Pero, una de sus principales propiedades consiste en regenerar el a-tocoferol a partir de radicales tocoferoxilo.

El camu camu es un fruto con un alto contenido de vitamina C⁽²¹⁾, compuesto que el ser humano no lo puede sintetizar y necesariamente debe ingerirlo en su dieta. Esta vitamina es un eficiente antioxidante; pero, también puede actuar como un agente prooxidante cuando se administra en altas dosis, especialmente cuando está en presencia de elevadas cantidades de metales de transición, generando radicales hidroxilo^(1,11,22).

En el presente trabajo se muestra la generación de radicales libres por acción del Fe(III) en presencia de camu camu y en un medio

con camu camu y etilendiamino tetraacético (EDTA).

MATERIALES Y MÉTODOS

La desoxirribosa y el ácido tiobarbitúrico fueron adquiridos de la *Sigma Chemical Company*; el ácido ascórbico, cloruro férrico, tiourea, manitol, reactivo de Folin-Ciocalteu, fosfato monopotásico, etilendiamino tetraacético (EDTA) y el ácido tricloroacético fueron comprados a la Merck Darmstad.

El camu camu fue adquirido a la INIA-Pucallpa (Instituto de Investigación Agroindustrial-Pucallpa), fue transportado vía aérea a Lima y trasladado inmediatamente al laboratorio, donde fue guardado en una congeladora a -8 ° C.

Se descongeló el fruto, se separó la parte comestible y se homogenizó con agua bidestilada en una proporción de 1:4 utilizando un homogenizador Potter-Elvehjem de vidrio. Este homogenizado fue centrifugado a 1,500 rpm durante 40 minutos, a cuyo término se separó el sobrenadante que fue utilizado en los diferentes experimentos.

El contenido de vitamina C del camu camu fue determinado utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu⁽²³⁾, habiéndose preparado una curva estándar para los efectos de la cuantificación.

Se utilizó la técnica de degradación de la desoxirribosa para mostrar la generación de radicales hidroxilo, los que al reaccionar con la desoxirribosa la transforman en malondialdehído, compuesto que reacciona con el ácido tiobarbitúrico en medio ácido. El medio de ensayo estuvo constituido por tampón fosfato 50 mM pH 7,4, cloruro férrico, desoxirribosa 2,8 mM y camu camu 0,025 g. Se incubó en un baño maría a 37° C durante 20 minutos, a cuyo término se adicionó 1 mL de ácido tricloroacético al 10% y 1 mL de ácido tiobarbitúrico al 1%. Luego, se sometió a ebullición durante 15 minutos y finalmente se leyó a 532 nm en un

espectrofotómetro Pye Unicam ⁽²⁴⁾. Paralelamente, se preparó el blanco correspondiente.

Las soluciones de cloruro férrico fueron preparadas el mismo día en que se realizaron los experimentos. Las concentraciones de tiourea, manitol y EDTA se indica en los gráficos respectivos. Todas las soluciones fueron preparadas con agua bidestilada.

RESULTADOS

Se determinó la concentración de la vitamina C, principal componente antioxidante del camu camu, utilizando la técnica de Folin-Ciocalteu en medio ácido, obteniéndose un valor de 2,100 mg/100 g de la parte comestible del fruto.

Con el propósito de observar el probable efecto generador de radicales hidroxilo del camu camu, en presencia de Fe-III, se realizó el experimento de la mencionada interacción en función del tiempo. En la Figura 1, puede apreciarse que la formación de radicales hidroxilo se incrementó rápidamente, alcanzando un valor máximo a los 2 minutos, permaneciendo luego invariable hasta los 10 minutos en que duró el experimento.

Siendo el camu camu una fruta con un elevado contenido de vitamina C, se realizó un experimento donde el medio de ensayo a pH 7,4 contenía camu camu, en presencia de concentraciones de Fe-III comprendidas entre 0,0375 y 0,150 mM. En la Figura 2, puede observarse que la generación de radicales hidroxilo se incrementó de una manera hiperbólica, comportamiento que fue dependiente de la concentración de Fe-III. Una regraficación de este resultado en doble recíproca se muestra en la Figura 3.

La tiourea es un compuesto de reconocida propiedad antioxidante. En tal sentido, se la adicionó a un sistema constituido por camu camu y Fe-III. En la Figura 4, puede observarse que la graficación en recíproca simple muestra que

la tiourea utilizada en concentraciones comprendidas entre 2,5 y 7,5 mM, inhibe la generación de radicales hidroxilo a través de un proceso que depende linealmente de la concentración de tiourea.

El EDTA es un compuesto que tiene la propiedad de formar complejos de tipo quelato con varios metales. En la Figura 5, se puede apreciar que la generación de radicales hidroxilo por camu camu en presencia de Fe-III se incrementó notablemente cuando se adicionó EDTA al medio de reacción. Este incremento se realizó de una manera lineal cuando se utilizaron concentraciones comprendidas entre 6,25 y 12,5 uM. Pero, a partir de esta última concentración, se produjo una inflexión negativa de la recta, efecto que se observó cuando las concentraciones de EDTA estuvieron comprendidas entre 25 y 37,5 uM.

El manitol también es un conocido compuesto que tiene propiedades antioxidantes. Cuando fue incorporado a un medio constituido por camu camu y Fe-III, en concentraciones que estuvieron en un rango de 7,5 y 25 mM, se observó una inhibición en la generación de radicales hidroxilo. En el la Figura 6, se aprecia que el efecto inhibitorio muestra una ligera desviación negativa cuando se utilizó una concentración de 25 mM de manitol.

DISCUSIÓN

La estrecha relación que existe entre las ‘especies reactivas de oxígeno’ y un apreciable número de enfermedades crónicas, ha tornado de particular interés el estudio de las propiedades antioxidantes o prooxidantes de diversas fuentes alimentarias.

Siendo el ácido ascórbico el principal antioxidante del camu camu, es de suponer que la presencia de Fe-III en un medio de reacción generaría radicales hidroxilo. Se ha descrito que el ascorbato reacciona con el oxígeno molecular en presencia de metales de transición, formando radicales libres, proceso que ocurre muy

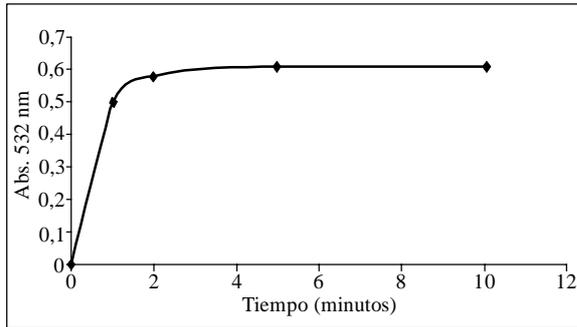


Figura 1. Generación de radicales libres por camu camu en presencia de Fe-III vs. tiempo.
Medio de ensayo: Tampón fosfato de potasio 50 mM pH 7,4, desoxirribosa 2,8 mM, Fe-III 0,1 mM y camu camu 0,025 g.

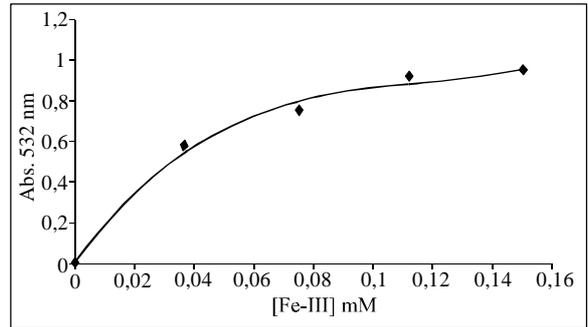


Figura 2. Generación de radicales libres por camu camu en presencia de Fe-III.
Medio de ensayo: Tampón fosfato de potasio 50 mM pH 7,4, desoxirribosa 2,8 mM y camu camu 0,025 g.

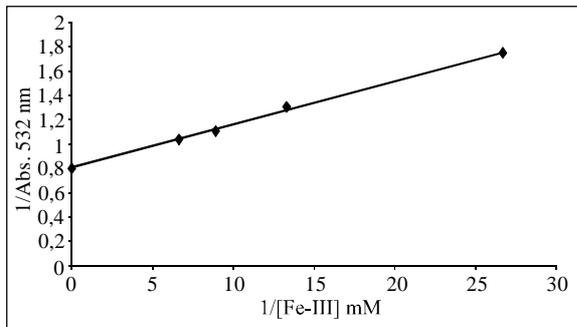


Figura 3. Regrificación en doble recíproca de la Figura 2.
Medio de ensayo: Tampón fosfato de potasio 50 mM pH 7,4, desoxirribosa 2,8 mM y camu camu 0,025 g.

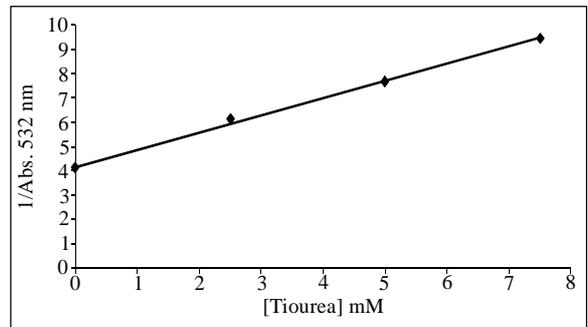


Figura 4. Efecto de la tiourea sobre la generación de radicales libres por camu camu en presencia de Fe-III.
Medio de ensayo: Tampón fosfato de potasio 50 mM pH 7,4, desoxirribosa 2,8 mM, Fe-III 0,125 mM y camu camu 0,025 g.

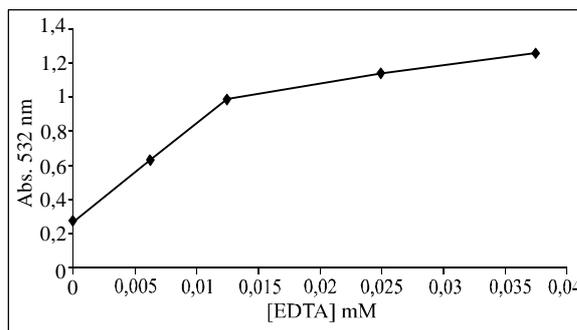


Figura 5. Efecto del EDTA sobre los radicales libres generados por camu camu y Fe-III.
Medio de ensayo: Tampón fosfato de potasio 50 mM pH 7,4, desoxirribosa 2,8 mM, Fe-III 0,025 mM y camu camu 0,025 g.

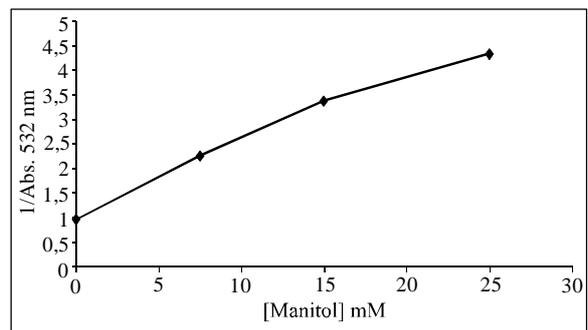


Figura 6. Efecto del manitol sobre la generación de radicales libres por camu camu en presencia de Fe-III.
Medio de ensayo: Tampón fosfato de potasio 50 mM pH 7,4, desoxirribosa 2,8 mM, Fe-III 0,25 mM y camu camu 0,025 g.

lentamente en ausencia de catalizadores, en un rango de pH comprendido entre 4 y 10 ⁽²⁵⁾. También, se ha mostrado que la velocidad de autooxidación se incrementa a medida que aumenta el pH de 1,5 a 3,5 en presencia de Cu-II o Fe-III. Es probable que a pH neutro, el anión superóxido sea el producto inicial de la reducción del oxígeno, debido a que el radical perhidroxilo tiene un pKa de 4,7. Así mismo, se ha descrito que el anión superóxido reacciona con el radical ascorbato con una constante de velocidad de $2,6 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ⁽¹²⁾.

El hecho de que al modificar la concentración de Fe-III en un medio conteniendo camu camu se incrementa hiperbólicamente la generación de radicales hidroxilo, sugiere que éstos se formarían a través de reacciones con la previa formación de un complejo intermedio, que estaría limitando la liberación de radicales libres. Esta observación se corrobora con la regraficación en doble recíproca que se muestra en la Figura 3. Diversos compuestos de naturaleza fenólica, como la miricetina, quercetina y gosalol ⁽²⁶⁾, pueden comportarse como sustancias prooxidantes cuando están presentes en un medio de reacción con Fe-III/EDTA y H_2O_2 . Así mismo, se ha observado que en el *Thymus vulgaris* existen metabolitos que tienen la propiedad de inhibir la lipoperoxidación mitocondrial y microsomal generada por los sistemas Fe-III/ADP en presencia de NADH o NADPH ⁽²⁷⁾.

El ión férrico reacciona con el ácido ascórbico a través de un proceso de transferencia de electrones por esfera interna, que incluye la formación de un complejo quelato. Luego, se transferiría un electrón del ascorbato al Fe(III) para producir el radical complejo-Fe(III), el que finalmente es convertido en ácido dehidroascórbico. Se ha sugerido que en la reducción de Fe-III a Fe-II se produciría la formación del complejo ascorbato-Fe(III), compuesto que tiene un pico de máxima absorción a 550 nm.



También, se ha sugerido la sustitución de moléculas de agua por el ascorbato. En este mecanismo participarían las especies $[\text{Fe}(\text{HA})(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ y $[\text{Fe}(\text{HA})(\text{H}_2\text{O})_5]^{2+}$, que reaccionarían con el ácido ascórbico con valores de las constantes de velocidad diferentes, proceso que ocurriría en condiciones de exceso de ácido ascórbico con respecto a Fe(III). Los complejos que se formarían con el ácido ascórbico actuando como ligante quelato serían:

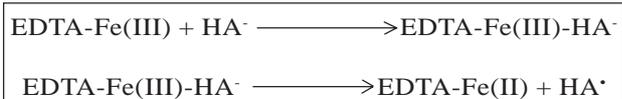


La inhibición de la generación de radicales libres ejercida por la tiourea y el manitol - compuestos que tienen la propiedad de captar radicales hidroxilo-, constituye una evidencia adicional de que en el medio de reacción constituido por camu camu y Fe(III), se estaría generando radicales hidroxilo. Se ha mostrado que la generación de radicales hidroxilo por Fe(II) promueve la degradación de la desoxirribosa e hidroxilación del benzoato en tampón fosfato pH 7,4. La presencia de formato, manitol o tiourea evitaron este proceso a través de una cinética de inhibición simple ⁽²⁴⁾.

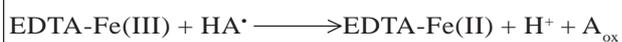
Las propiedades quelantes de metal de los flavonoides probablemente jueguen un rol importante en diversas condiciones de estrés oxidativo en el ser humano. En tal sentido, se ha estudiado la capacidad que tienen los flavonoides para reducir Cu(II) y Fe(III), vinculando la reactividad con la estructura química de compuestos como diadzeína, genisteína, apigenina, luteolina, quercetina, miricetina, rutina, taxifolina, naringina, naringenina y catequiza. Todos los flavonoides redujeron al cobre de una manera más eficiente que al hierro. Los flavonoides que mostraron mejor capacidad reductora con Fe-III fueron aquellos que tenían doble enlace en posición 2-3 y poseían el grupo catecol y el grupo 3-hidroxilo en el anillo B. De los flavonoides estudiados, solamente la miricetina y la quercetina interaccionaron fuertemente con el

Fe(III) a pH 5,5, sugiriéndose que reducen Fe(III) a Fe(II) antes de asociarse al metal ⁽²⁸⁾.

El EDTA, compuesto que tiene la propiedad de formar quelato con el hierro, eventualmente podría impedir la generación de radicales hidroxilo, ya que el Fe(III) no estaría disponible para catalizar la autooxidación del ascorbato. Del efecto catalítico del hierro sobre la oxidación del ácido ascórbico en presencia o ausencia de agentes quelantes, se ha mostrado que se realiza un reciclado entre los estados ferroso y férrico. En estas secuencias de reacciones, se ha propuesto la formación de complejos Ascorbato-Fe(III) o EDTA-Fe(III)-Ascorbato, los que reaccionarían en la etapa determinante de la velocidad de reacción. Cuando la concentración de ácido ascórbico es elevada, se forma el complejo EDTA-Fe(III)-Ascorbato. Luego, se produciría la reacción de óxido-reducción formando el radical HA• ⁽²⁹⁾.



En estas reacciones se observa que la velocidad de formación de los complejos Ascorbato-Fe(III) o EDTA-Fe(III)-Ascorbato son menores que la velocidad con que ocurre la transferencia de electrones. La relación entre las concentraciones de las formas oxidadas y reducidas del hierro, son dependientes de la velocidad específica del proceso de óxido-reducción. La reacción catalizada en presencia de un exceso de EDTA se produciría a través de la siguiente reacción:



La administración endovenosa de altas dosis de vitamina C y EDTA en adultos, produjo estrés oxidativo inmediatamente después de la terapia de quelación con EDTA. El monitoreo se realizó mediante mediciones de oxidación

de lípidos, daño al ADN y proteína. Sin embargo, este efecto prooxidante es transitorio, ya que después de múltiples sesiones de esta terapia se observa un efecto protector sobre la peroxidación lipídica, por cuyo motivo, los autores sugieren que es necesario tener mucha precaución cuando se tenga que administrar elevadas dosis de vitamina C en la terapia de quelación con EDTA ⁽³⁰⁾.

Se ha descrito que el complejo EDTA-Fe(III) mantiene la propiedad de participar en el proceso de oxidación del ascorbato, lo que ocurriría debido a que el potencial redox del Fe(III) se incrementa cuando se compleja con el EDTA ⁽²⁹⁾. Ello permitiría explicar el hecho de observar un incremento en la generación de radicales hidroxilo cuando el Fe(III) está presente en un medio formado por camu camu y EDTA. En esta reacción se regenera Fe-II, que reaccionaría con el H₂O₂, incrementando de esta manera la formación de radicales hidroxilo ⁽⁶⁻⁸⁾.

Nuestros resultados nos permiten sugerir que la asociación de alimentos o medicamentos con alta concentración de hierro no deberían ser ingeridos con frutas que tengan un alto contenido de vitamina C.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Balz F. Natural Antioxidants in Human Health and Disease. New York: Academic Press Inc.; 1994.
2. Tessier F, Moreaux V, Birlouez-Aragon I, Junes P, Mondon H. Decrease in vitamin C concentration in human lenses during cataract progression. *Int J Vit Nutr Res.* 1998;68(5):309-15.
3. Loria CM, Klag MJ, Caulfield LE, Whelton PK. Vitamin C status and mortality in U.S. adults. *Am J Clin Nutr.* 2000;72:139-45.
4. Valkonen MM, Kuusi T. Vitamin C prevents the acute atherogenic effects of passive smoking. *Free Radic Biol Med.* 2000;28:428-36.
5. Byung PY. Cellular defense against damage from reactive oxygen species. *Physiological Reviews.* 1994;74(1):139-62.
6. Fehér J, Csomós G, Vereckei A. Free radicals reactions in medicine. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag. 1987.
7. Barja G. Radicales libres y antioxidantes. En: Cascales M. Bioquímica y Fisiopatología del Estrés Oxidativo. Madrid: Real Academia Nacional de Farmacia; 1997.

8. Cascales M. Estrés oxidativo: Envejecimiento y enfermedad. Madrid: Instituto de España; 1999.
9. Boveris A, Cadenas E, Stoppani OM. Role of ubiquinona in the mitochondrial generation of hydrogen peroxide. *Biochem J.* 1976;153:435-44.
10. Turrens JF, Boveris A. Generation of superoxide anion by the NADH dehydrogenase of bovine heart mitochondria. *Biochem J.* 1980;1191:421-7.
11. Guija E, Troncoso L. Radicales libres y envejecimiento. *Bol Soc Quim Perú.* 2000;46:33-55.
12. Roza C, Mamone M. Vitaminas. Agentes nutritivos y terapéuticos. España: Ed. Doyma SA. 1986.
13. Lee J, Koo N, Min DB. Reactive oxygen species, aging and antioxidants nutraceuticals. *Compreh Rev Food Science and Food Safety.* 2004;3:21-33.
14. Cao G, Prior R. Postprandial increases in serum antioxidant capacity in older women. *J Appl Physiol.* 2000;89:877-83.
15. Meydani M. Effect of functional food ingredients: vitamin E modulation of cardiovascular diseases and immune status in the elderly. *Am J Clin Nutr.* 2000;71:16655-85.
16. Giovannucci E, Ascherio A, Rimm EB, Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC. Intake of carotenoids and retinol in relation to risk of prostate cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1995;87(23):1767-77.
17. Weisburger JH. Mechanism of action of antioxidants as exemplified in vegetables, tomatoes and tea. *Food Chem Toxicol.* 1999;37(9/10):943-8.
18. Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutr Rev.* 1998;56:317-33.
19. Wiseman H, O'Reilly JD, Adlercreutz H, Mallet AI, Bowey EA, Rowland IR, Sanders TA. Isoflavone phytoestrogens consumed in soy decrease F2-isoprostane concentrations and increase resistance of low-density lipoprotein to oxidation in humans. *Am J Clin Nutr.* 2000;72:395-400.
20. Niki E. Vitamin C as an antioxidant. *World Rev Nutr Diet.* 1991;64:1-30.
21. Collazos C. Composición química de alimentos de mayor consumo en el Perú. 6ª edición. Lima: MINSA; 1993. p. 34.
22. Sardi B. High-dose vitamin C and iron overload. *Ann Intern Med.* 2004;140:846-7.
23. Jagota SK. A new colorimetric technique for estimation of vitamin C using Folin Fenol reagent. *Anal Biochem.* 1992;127:178-82.
24. Gutteridge J. Ferrous salt promoted damage to deoxyribose and benzoate. *Biochem J.* 1987;243:709-14.
25. Buettner G, Jurkiewicz B. Catalytic metals, ascorbate and free radicals: combinations to avoid. *Rad Research.* 1996;145:532-41.
26. Laughton M, Halliwell B, Evans PJ, Houlst JR. Antioxidant and pro-oxidant actions of the plant phenolics quercetina, gossypol and myricetin. *Biochemical Pharmacol.* 1989;38:2859-65.
27. Haraguchi H, Saito T, Ishikawa H, Date H, Kataoka S, Tamura Y, Mizutani K. Antiperoxidative components in *Thymus vulgaris*. *Planta Medica.* 1996;62:217-21.
28. Mira L, Fernandez MT, Santos M, Rocha R, Florencio MH, Jennings KR. Interactions of flavonoids with iron and copper ions: A mechanism for their antioxidant activity. *Free Radical Research.* 2002;36:1199-208.
29. Halliwell B, Foyer C. Ascorbic acid, metal ions and the superoxide radical. *Biochem J.* 1976;155:697-700.
30. Hininger I, Waters R, Osman M, Garrel C, Fernholz K, Roussel AM, Anderson RA. Acute prooxidant effects of vitamin C in EDTA chelation therapy and long-term antioxidant benefits of therapy. *Free Radic Biol Med.* 2005;38:1565-70.

Manuscrito recibido el 09 de octubre de 2005 y aceptado para publicación el 10 diciembre de 2005.

Correspondencia: Dra. Luzmila Troncoso Corzo
Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición.
Facultad de Medicina, UNMSM.
Av Grau 755. Lima 1, Perú
Correo-e: ltroncoso@terra.com.pe