

Artículo Original

Propuesta de un criterio microbiológico para pulpa de camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. McVaugh) semi-procesada y congeladaMicrobiological criteria proposal for camu-camu pulp (*Myrciaria dubia* H.B.K. McVaugh) semi-processed and frozen

Félix G. Ramos, Benedicta C. López

Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Lima, Perú.

Resumen

En el Perú, una de las principales dificultades en el procesamiento de pulpa de camu-camu congelado es la obtención de fruta fresca de buena calidad, debido a que ésta sufre daños durante su transporte desde la Amazonía hacia Lima, donde se encuentran las plantas de procesamiento. Para evitar que los lotes de frutas lleguen con altos porcentajes de frutos dañados o malogrados se prefiere comprar la pulpa de camu-camu semi-procesada y congelada, facilitando así su mejor disponibilidad para el transporte. Esta materia prima es lavada, pulpeada y congelada en el lugar de la cosecha o zona de acopio y luego vendida a las plantas de fabricación en Lima, donde se refinan, estandarizan, tratan térmicamente y congelan para obtener un producto de larga vida útil, la cual es comercializada y exportada. Las características de esta fruta hacen que sea un producto de bajo riesgo para la salud, no permitiendo el crecimiento de bacterias patógenas debido a sus características físico-químicas y a la presencia de fitoquímicos, por lo que los microorganismos de interés son los alterantes. El presente trabajo se realizó en una planta de fabricación de pulpa de frutas en Lima y consistió en establecer un criterio microbiológico (CM) para esta materia prima, basándose en los recuentos de las evaluaciones microbiológicas para microorganismos aerobios mesófilos, mohos, levaduras y coliformes totales, durante la recepción. El CM propuesto permite aceptar 1 lote bueno con un 80 % de probabilidad y aceptar 1 lote malo con 50 % de defectuosos con un 13 % de probabilidad.

Palabras claves: Especificación microbiológica; *Myrciaria dubia* H.B.K. McVaugh; frutos tropicales.

Abstract

In Peru, one of the main difficulties in the processing of frozen camu-camu pulp is to obtain fresh fruit with good quality, because it is damaged during the transportation from the Amazon to Lima, place where are located the processing factories. To avoid that fruit lots arrive with high percentages of damaged fruit, it is preferred to buy camu-camu pulp semi-processed and frozen, thus reducing risks during transport. This raw material is washed, pulped and frozen in the place of harvest or collection area, and then sold to processing factories in Lima, where it is refined, standardized, heat treated and frozen to obtain a product of long life, which is marketed and exported. The characteristics of this fruit make it a low risk to health, not allowing the growth of pathogenic bacteria, due to its physicochemical characteristics and the presence of phytochemicals, for this reason the microorganisms of interest for these raw materials are the spoilages. The present work was developed at a processing factory of fruit pulp in Lima, to establish microbiological criteria (MC) for this raw material, based on the results of evaluations of total counts of bacteria, molds, yeasts and total coliforms, during the reception. The MC proposed allows to accept 1 good lot with an 80% of probability and accept 1 bad lot containing 50% of defectives with 13% of probability.

Key words: Microbiological specification; *Myrciaria dubia* H.B.K. McVaugh; tropical fruits.

Correspondencia:

Nombre: Félix G. Ramos, Benedicta C. López

Dirección: Jr. Puno 1002. Lima, Perú.

Correo: felix.ramos@unmsm.edu.pe, blopezf@unmsm.edu.pe

Recibido: 17/11/2017

Aceptado: 03/10/2018

Citar como:

Ramos, F., López, B. Propuesta de un criterio microbiológico para pulpa de camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. McVaugh) semi-procesada y congelada. Ciencia e Investigación 2018 21(1):43-48.

© Los autores. Este artículo es publicado por la Ciencia e Investigación de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución - No Comercia _Compartir Igual 4.0 Internacional. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>) que permite el uso no comercial, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada.

INTRODUCCIÓN

El camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. McVaugh) es un fruto nativo de la Amazonía, que crece naturalmente en los márgenes de los ríos y lagos y se caracteriza por presentar compuestos bioactivos como parte de sus nutrientes, destacándose por su alto contenido de Vitamina C, además de contener diversos compuestos fenólicos, carotenoides, minerales y aminoácidos^{1,2,3}. Este fruto categorizado como alimento funcional por presentar propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antimicrobianas⁴, presenta un gran interés comercial a nivel mundial y se exporta desde el Perú principalmente bajo la forma de pulpa y polvo^{5,6}.

El camu-camu es un fruto muy perecible debido a sus características físico-químicas, pudiendo deteriorarse durante el transporte debido a factores ambientales a los cuales es sometido, ocasionando la pérdida de sus características sensoriales y nutritivas. Por ello, la alternativa a la compra de fruta fresca es la “pulpa de camu-camu semi-procesada y congelada”, la cual es elaborada principalmente en la ciudad de Pucallpa, y luego es transportada a las plantas de procesamiento de frutas ubicadas en Lima generalmente en baldes de 18 kg y en bidones por 50 kg. El producto semi-procesado y congelado posteriormente se refina, estandariza, trata térmicamente y congela, para obtener un producto de larga vida útil, de esta forma se comercializa y exporta⁶.

Por otro lado, la pulpa de camu-camu presenta propiedades antimicrobianas frente a bacterias patógenas⁷ (*Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* y *Staphylococcus aureus*) debido a su bajo pH, el cual se encuentra entre 2.3 – 3.0, y a la presencia de compuestos fenólicos, por lo que la importancia de la calidad microbiológica se enfoca en los microorganismos del deterioro⁸.

Con la finalidad de aceptar o rechazar un lote de alimento, la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF) elaboró una guía sobre el uso de los planes de muestreo y los criterios microbiológicos para alimentos en el comercio internacional^{9,10}. Los planes de muestreo pueden ser de dos tipos: por variables y por atributos, siendo éste último el de elección cuando se trata de la evaluación microbiológica de un lote de alimento por aspectos regulatorios, por evaluaciones en el puerto de entrada a un país o para propósitos específicos dentro de una planta procesadora¹¹. Dentro de un plan de muestreo por atributos, los resultados de las evaluaciones microbiológicas practicadas a las unidades de muestra pueden ser clasificados como “aceptables” o “rechazables” en un plan de 2 clases, o “aceptables”, “marginalmente aceptables” y “rechazables” en un plan de tres clases. La decisión final de aceptar o rechazar un lote de alimento está basada sobre los resultados en el número de unidades de muestra en cada clase.

Un criterio microbiológico define la aceptabilidad de un producto o lote de alimento basado sobre la ausencia o presencia de un microorganismo (comúnmente pató-

geno) o en el número de microorganismo o grupo de microorganismos y/o cantidad de su toxina/metabolito por unidad de masa, volumen, área o lote. Estos criterios pueden ser de tres tipos: “normas o estándares microbiológicos”, los cuales son obligatorios y están escritos dentro de la ley o regulaciones gubernamentales de un país para proteger la salud pública; “especificaciones microbiológicas”, los cuales son establecidos entre compradores y vendedores (productores) para definir la calidad de un producto y los atributos de seguridad requeridos para la compra; y “guías o recomendaciones microbiológicas”, los cuales proporcionan asesoramiento a la industria u otros organismos sobre los niveles microbianos aceptables o a ser esperados cuando el proceso productivo sigue las buenas prácticas de manufactura e higiene estando bajo control¹².

Tomando en cuenta un plan de muestreo por atributos recomendado por la ICMSF, el objetivo de este trabajo fue establecer un criterio microbiológico, el cual será aplicado a la “pulpa de camu-camu semi-procesada y congelada” basándose en los resultados de las evaluaciones microbiológicas para microorganismos aerobios mesófilos, mohos, levaduras y coliformes totales, obtenidos durante la recepción de este producto en una planta procesadora de frutas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo es descriptivo, analítico y prospectivo.

Recolección de la muestra

Las unidades de muestra (124) fueron recolectadas a partir de 83 lotes de “pulpa de camu-camu semi-procesada y congelada”, que ingresaron a la planta de procesamiento de frutas en Lima durante los años 2007 - 2010. Cada muestra fue de 0.5 Kg y extraída de manera aseptica a partir de bidones de 50 kg de peso neto.

Análisis y Enumeración

Diez gramos de cada muestra fueron diluidas con 90 mL de Agua Peptonada Tamponada (APT). Otras diluciones decimales fueron realizadas en APT y 1 mL de cada dilución fue incorporado en duplicado sobre Plate Count Agar (PCA, BD Difco™) e incubado a 30 °C por 2 días para enumerar los microorganismos aerobios mesófilos; sobre Potato Dextrose Agar (PDA, BD Difco™) acidificado a pH 3.5 con 10% de solución de ácido tartárico e incubado a 25°C por 5 días para el recuento de mohos y levaduras; y sobre Violet Red Bile Agar (VRBA, BD Difco™) e incubado a 36°C por 2 días para el recuento de coliformes totales.

Análisis estadístico

Antes de realizar el análisis estadístico, todos los recuentos fueron transformados a Log₁₀ UFC/g con la finalidad de trabajar los datos en una curva de distribución normal. En cada conjunto de datos pertenecientes a cada grupo de microorganismos se determinó los estadísticos descriptivos: moda, promedio, valor mínimo, mediana, valor máximo, varianza y desviación estándar. Así mis-

mo se procedió a realizar los test de Skewness, Kurtosis, Shapiro Wilk y la prueba de normalidad.

Determinación de los valores “n”, “c”, “m” y “M”

Para determinar los valores de “n”, “c”, “m” y “M” que formarán parte del criterio microbiológico, se siguió las recomendaciones de la ICMSF¹² (casos recomendados en relación con el riesgo sanitario y las condiciones de uso) y los criterios estadísticos propuestos por el Prof. Basil Jarvis (percentil 95 y 99)¹³, donde “n” representa el número de muestras a ser tomadas aleatoriamente en un lote y posteriormente evaluadas, “c” representa el número máximo permisible de muestras defectuosas cuyos recuentos microbiológicos se encuentran entre “m” y “M” (en un plan de muestreo de 3 clases), “m” representa un límite microbiológico que separa la calidad satisfactoria de una marginalmente aceptable (en un plan de muestreo de 3 clases) y “M” representa un límite microbiológico que separa los productos cuya calidad son marginalmente aceptables de los que presenta una calidad inaceptable.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Parámetros estadísticos

Los recuentos microbiológicos fueron clasificados en datos originales y corregidos. Los valores sin corregir corresponden a los 124 “datos originales” los cuales incluyen los datos en que no se obtuvieron conteos y fueron reemplazados por el límite de detección del método y los “datos corregidos” corresponden a los 124 datos menos los datos en los que no se obtuvieron conteos para cada grupo de microorganismo.

En la tabla 1 se muestran los parámetros estadísticos obtenidos, los cuales nos ayudarán a determinar los valores de “m” y “M” en el criterio microbiológico:

De acuerdo a los resultados obtenidos, se decidió trabajar con el set de datos corregidos, debido a que mostraba un incremento en el promedio, una disminución en los valores de la varianza y la desviación estándar comparados con el set de datos originales y además se ajustaba mejor a una curva de distribución normal. Basados en los datos de la tabla 1 es necesario mencionar que la calidad microbiológica de las muestras evaluadas fue óptima en el 25 % de las muestras para recuento de microorganismos aerobios mesófilos, 60 % para mohos, 42 % para levaduras y 100 % para coliformes totales, debido a que no se detectó crecimiento alguno.

Valor de “n” y “c”

La ICMSF¹² indicó que la severidad de un plan de muestreo microbiológico aplicado a microorganismos alterantes (MA), los cuales se consideran pruebas de utilidad (por ser de estimación de la contaminación general, disminución de la vida útil del alimento o de la alteración), correspondía a uno de los 3 primeros casos recomendados en relación con el riesgo sanitario y las condiciones de uso. Estos casos se basan en las condiciones normales esperables de manipulación y consumo del alimento después del muestreo, considerando una reducción del riesgo, que el riesgo se mantenga o que el riesgo pueda aumentar.

De acuerdo a lo detallado anteriormente, la materia prima “pulpa de camu-camu semi-procesada y congelada” en relación a los MA se encontraría en el caso 1, debido a que será refinada y tratada térmicamente en las plantas de procesamiento en Lima, reduciendo el riesgo y aumentando la vida útil del alimento. Este producto al pertenecer al caso 1 se encuentra dentro de un plan de 3 clases, con un $n = 5$ y $c = 3$ para microorganismos aerobios mesófilos, mohos y levaduras.

Tabla 1. Resumen de estadísticos descriptivos de importancia

	Set de datos originales			Set de datos corregidos		
	Log AM *	Log Mohos	Log Levaduras	Log AM *	Log Mohos	Log Levaduras
N° muestras	124	124	124	93	50	72
Moda	0.48	0.48	0.48	1.00	1.00	1.30
Min.	0.48	0.48	0.48	1.00	1.00	1.00
Promedio (μ)	1.71	0.97	1.44	2.13	1.70	2.13
Mediana	1.60	0.48	1.30	1.90	1.60	2.04
Máx.	4.30	3.26	4.23	4.30	3.26	4.23
Varianza	1.06	0.54	1.10	0.73	0.44	0.74
Desv. Estándar (σ)	1.03	0.73	1.05	0.86	0.66	0.86
Skewness	0.45	1.40	0.82	0.51	0.65	0.64
Kurtosis	-0.77	0.94	-0.33	-0.65	-0.50	-0.36
Shapiro Wilk	0.92	0.72	0.85	0.94	0.89	0.94
Ppara normalidad	****	****	****	****	****	***

* AM = Aerobios mesófilos ***P = 0.001; **** P < 0.0001

Para el caso de los coliformes totales, se encontraría en el caso 4 (categorizado para microorganismos indicadores) con un $n = 5$ y $c = 3$.

Valor de “m”

El valor de “m”, que en la práctica es el equivalente al límite máximo permitido de un microorganismo objetivo en condiciones de operación siguiendo las Buenas Prácticas de Manufactura^{14,15}, puede ser obtenido de acuerdo a lo recomendado por el Prof. Basil Jarvis, quien propone que el valor de “m” para propósitos de control industrial es frecuentemente establecido como el valor o muy cercano al valor del percentil 95 de los valores observados. Esto se determina mediante la siguiente fórmula: $\mu + 1.65 \sigma$, donde μ es el promedio y σ representa la desviación estándar para cada grupo de microorganismos. Entonces aplicándolo a nuestros resultados obtendríamos un valor “m” de 3.5 Log UFC/g para los microorganismos aerobios mesófilos y levaduras, y un valor 2.8 Log UFC/g para los mohos¹³.

Valor de “M”

El valor de “M”, considerado como el límite inaceptable, es obtenido como el valor o muy cercano al valor del percentil 99 de los valores observados¹³, el cual es determinado por: $\mu + 2.33 \sigma$. Entonces aplicándolo a nuestros resultados obtendríamos un valor “M” de 4.0 Log UFC/g para los microorganismos aerobios mesófilos y levaduras y un valor 3.2 Log UFC/g para los mohos. Estos resultados coinciden con lo recomendado por el Dr. Kornacki, quien sugirió que el valor de M (para microorganismos no patogénicos) puede ser igual a 2

o más desviaciones estándar por encima del promedio Log_{10} UFC/mL o g de producto¹⁶.

Criterio microbiológico establecido

De acuerdo a los cálculos desarrollados anteriormente, en resumen tendríamos la siguiente tabla, donde se indica claramente los valores de n, c, m y M para cada grupo de microorganismos:

Curva característica de operación

Al usar un programa de muestreo como el de la tabla 2, existe la probabilidad de aceptar un lote relativamente deficiente o de rechazar un lote relativamente bueno, por lo que se ha generado una curva característica de operación (ver Figura N° 1), basada en los datos de la tabla 3, la cual ha sido extraída de la ICMSF¹⁷ (1986) por combinación de un plan de 2 clases para $n = 5$, $c = 3$ que asume “0” defectos marginales y un plan de 3 clases para $n = 5$, $c = 3$ que da la probabilidad de aceptación (P_a) para combinaciones de 10 a 90 % de muestras marginalmente defectuosas con 0 a 50 % de muestras defectuosas.

Estos datos muestran que hay al menos una probabilidad de 80 % de aceptar un lote que contiene 0 % de defectuosos y hasta 60 % de muestras marginalmente defectuosas, pero menos de 20 % de probabilidad de aceptar un lote conteniendo 0 % de defectuosos y 90 % de marginalmente defectuosos. Sin embargo, solo hay una probabilidad de 13 % de aceptar un lote con 50 % de defectuosos y 0 % de muestras marginalmente defectuosas.

Tabla 2. Criterio microbiológico para “pulpa de camu-camu semi-procesada y congelada”

Grupo de microorganismo	Clase	N° de muestras (n)	c	Límite UFC/g	
				m	M
Aerobios mesófilos	3 clases	5	3	3×10^3	1×10^4
Mohos	3 clases	5	3	6×10^2	16×10^2
Levaduras	3 clases	5	3	3×10^3	1×10^4
Coliformes totales	2 clases	5	3	< 1	-

Tabla 3. Probabilidad de aceptación (P_a) de lotes para un plan de 3 clases con $n = 5$ y $c = 3$

Defectuosos (%)	Probabilidad de aceptación con defectuosos marginales (%)									
	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90
50	0.13	0.03	0.03	0.02	0.01	<*				
40	0.22	0.08	0.07	0.06	0.04	0.02	<			
30	0.34	0.17	0.16	0.15	0.12	0.07	0.03	<		
20	0.51	0.33	0.32	0.31	0.27	0.20	0.12	0.04	<	
10	0.73	0.59	0.58	0.56	0.52	0.43	0.32	0.18	0.06	<
5	0.86	0.77	0.77	0.75	0.69	0.60	0.47	0.31	0.14	0.02
0	1.00	1.00	0.99	0.97	0.91	0.81	0.66	0.47	0.26	0.08

* < = 0.005

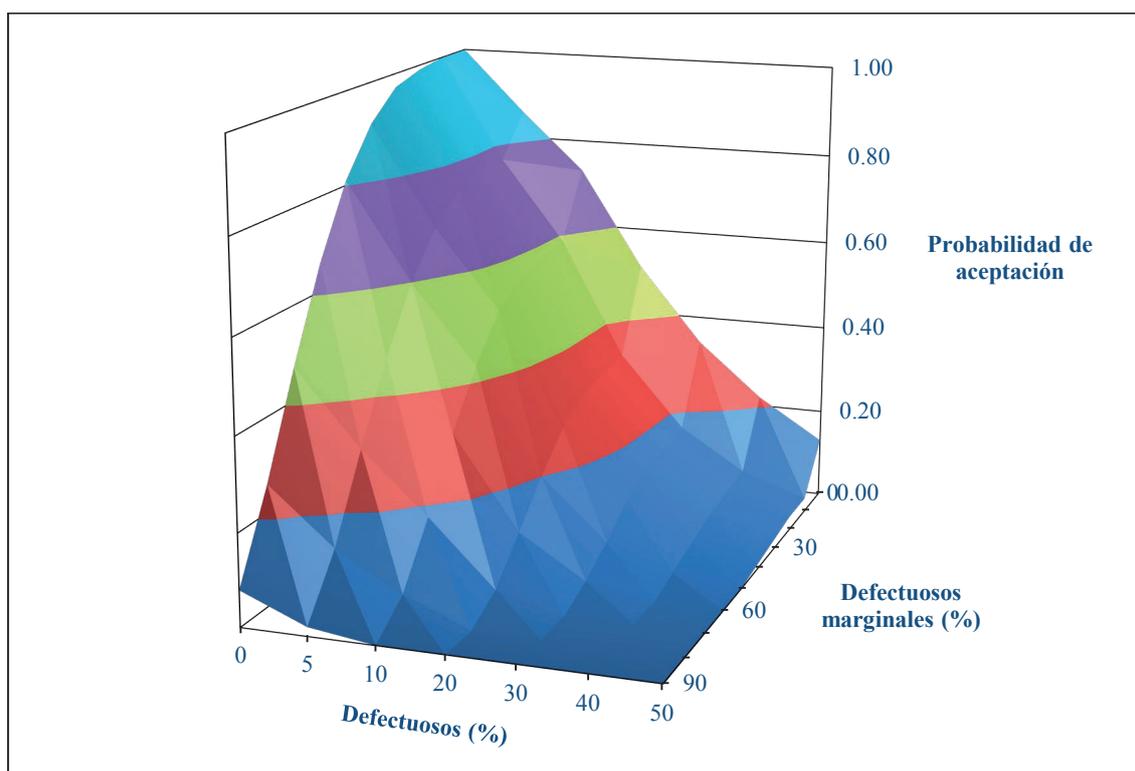


Figura 1. Probabilidad de aceptación (P_a) para varios niveles de muestras defectuosas y marginalmente defectuosas.

CONCLUSIONES

El criterio microbiológico propuesto en la tabla 2 para pulpa de camu-camu semi-procesada y congelada permite aceptar 1 lote bueno con un 80 % de probabilidad y aceptar 1 lote malo con 50 % de defectuosos con un 13 % de probabilidad.

AGRADECIMIENTOS

Un agradecimiento especial al Prof. Basil Jarvis, quien nos apoyó en el tratamiento de los datos, la verificación de los cálculos estadísticos y nos guió con la presentación del informe. Además quedamos muy agradecidos con la empresa SELVA INDUSTRIAL S.A., que nos permitió obtener las muestras de los diferentes lotes en la recepción.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Yuyama K, Aguiar JPL, Yuyama LKO. Camu-camu: Um fruto fantástico como fonte de vitamin C. *Acta Amaz.* 2002; 32(1):169-174.
2. Sorifa Akter M, Oh S, Eun J-B, Ahmed M. Nutritional compositions and health promoting phytochemicals of camu-camu (*myrciaria dubia*) fruit: A review. *Food Res Int.* 2011; 44(7):1728-1732.
3. Chirinos R, Galarza J, Betalleluz-Pallardel I, Pedreschi R, Campos D. Antioxidant compounds and antioxidante capacity of Peruvian camu camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) McVaugh) fruit at different maturity stages. *Food Chem.* 2010; 120(4):1019-1024.
4. Arellano-Acuña E, Rojas-Zavaleta I, Paucar-Menacho. Camu-camu (*Myrciaria dubia*): Fruta tropical de excelentes propiedades funcionales que ayudan a mejorar la calidad de vida. *Sci. agropecu.* 2016; 7(4):433-443.
5. Sistema Integrado de Información de Comercio Exterior - SICEX [Internet]. Exportación del producto camu camu según sus principales presentaciones en Kg. 2004 – 2018; [acceso 12 ago 2018]. Disponible en: <http://www.siicex.gob.pe/siicex/apb/ReporteProducto.aspx?psector=1025&preporte=prodpresvolu&pvalor=1920>.
6. Hernández MS, Carrillo M, Barrera J, Fernández-Trujillo JP. Camu-camu (*Myrciaria dubia* Kunt McVaugh). In: Yahia EM, editor. *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits. Volume 2: Açai to citrus.* Cambridge: Woodhead Publishing Limited; 2011. p. 352-373, 374e-375e.
7. Ramos F, Sánchez P, Noa L, Ramos JC, Agurto T. Comparando el efecto antimicrobiano de jugos y pulpas de frutas industriales producidos en Perú, frente a bacterias patógenas. Estudio preliminar. *Rev. Vitae.* 2016; 23(Supl.2): S71-S72.
8. Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual (INDECOPI). NTP-NA 0096. Productos Naturales. Pulpa de camu camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. Mc Vaugh). Definiciones y requisitos. Lima, 2012.
9. Dahms S. Microbiological sampling plans – Statistical aspects. *Mitt. Lebensm. Hyg.* 2004; 95:32-44.
10. ICMSF. *Microorganisms in Foods 8. Use of data for assessing process control and product acceptance.* New York: Springer Science + Business Media, LLC; 2011.
11. Jarvis GA, Malcolm S.A. Comparison of three-class attributes sampling plans and variables sampling plans for lot acceptance sampling in food microbiology. *J Food Protect.* 1986; 49(9):724-728.

12. ICMSF. Microorganisms in Foods 7. Microbiological Testing in Food Safety Management. New York: Kluwer Academic/ Plenum Publishers; 2002.
13. Jarvis B. Risk assessment and microbiological criteria for foods. In: Jarvis B, editor. Statistical Aspects of the Microbiological Examination of Foods. Third edition. London: Academic Press; 2016. p. 295-319.
14. Hildebrandt G, Böhmer L, Dahms S. Three-class attributes plans in microbiological quality control: A contribution to the discussion. J Food Protect. 1995; 58 (7): 784-790.
15. Massaguer PR. Microbiologia dos Processos Alimentares. São Paulo: Livraria Varela Ltda; 2006.
16. Kornacki JL. How many samples do it take? In: Kornacki JL, editor. Principles of Microbiological Troubleshooting in the Industrial Food Processing Environment. New York: Springer Science + Business Media, LCC; 2010. p. 137-146.
17. ICMSF. Microorganisms in Foods. 2: Sampling for Microbiological Analysis. Principles and specific applications. Second edition. Toronto: University of Toronto Press; 1986.

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Fuente de financiamiento: Autofinanciado