

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**  
**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE CIENCIA, TECNOLOGÍA E INGENIERÍA**  
**DE LOS ALIMENTOS**



**“CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN ANTIOXIDANTE DE LA PULPA  
DE CAMU - CAMU (*Myrciaria dubia* Mc Vaugh) FRESCA, CONCENTRADA AL  
VACÍO Y ALMACENADA EN CONGELACIÓN”**

**Tesis**

**Para optar el título de:**

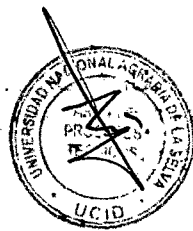
**INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**Bach. CARMEN IMELDA PÁUCAR LOMAS**

**PROMOCIÓN 2008**

**Tingo María – Perú**

**2012**



**Q04**

**P29**

**Páucar Lomas, Carmen Imelda**

Caracterización y evaluación antioxidante de la pulpa de camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc Vaugh) fresca, concentrada al vacío y almacenada en congelación. Tingo María, 2012

75 páginas; 14 cuadros; 09 figs.; 91 ref.; 30 cm.

Tesis (Ingeniero en Industrias Alimentarias) Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María (Perú). Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias.

**1. CARACTERIZACIÓN    2. PULPA    3. ALMACENAMIENTO**

**4. ANTIOXIDANTE    5. CONCENTRACIONES    6. CAMU-CAMU**



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**  
**Tingo María**  
**FACULTAD DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**  
Av. Universitaria s/n. Teléfono (062) 561385 – Fax (062) 561156  
Apart. Postal 156 Tingo María E.mail; fia@unas.edu.pe

### ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos en acto público el 25 de octubre de 2012, a horas 11:00 a.m. en la Sala de Grados de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicada en la ciudad de Tingo María, provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco, para calificar la tesis presentado por la Bach. **PAUCAR LOMAS, Carmen Imelda**, titulada:

### **“CARACTERIZACION Y EVALUCION ANTIOXIDANTE DE LA PULPA DE CAMU-CAMU (*Myrciaria dubia* Mc.Vaugh) FRESCA, CONCENTRADA AL VACIO Y ALMACENADA EN CONGELACION”**

Después de haber escuchado la sustentación, las respuestas a las preguntas formuladas, lo declaran **APROBADO** con el calificativo de **MUY BUENO** en consecuencia la Bachiller, queda apta para recibir el título de **Ingeniero en Industrias Alimentarias** del Consejo Universitario, de conformidad con el Art. 22º de la Ley Universitaria 23733; los artículos 51º y 52º del Estatuto de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Tingo María, 05 de noviembre de 2012

.....  
**Dra. Elizabeth Ordoñez Gómez**  
**Presidente**

.....  
**Ing. Williams Roldán Carbajal**  
**Miembro**

.....  
**Ing. Eduardo Cáceres Almenara**  
**Miembro**

.....  
**Dr. Pedro Peláez Sánchez**  
**Asesor**

## **DEDICATORIA**

**A Dios nuestro señor, a mi salvador personal, por darme fuerza y voluntad para seguir y concluir mi carrera profesional, por acompañarme siempre y por guiar mis pasos en todo momento.**

**A mi madre GISELA con gratitud, quién con su dedicación y sacrificio hizo posible mi anhelo de ser profesional.**

**A mi preciosa hija Aisis Jhamiley que fue mi mayor motivación en esos días difíciles, gracias por ser MI VIDA.**

**Con la estima de siempre, a mis hermanos Carlos, Irwin, Paula, Nancy, por su apoyo constante durante mi carrera.**

**Lo que hoy es utópico mañana es real. Mundos posibles. La utopía es lo que ha conducido a que seamos posibles. Jerome Bruner.**

## **AGRADECIMIENTOS**

- A mi madre por sus consejos, por creer en mí y darme fuerzas, por su paciencia, sabiduría, porque sin ella no estaría aquí ni sería quien soy ahora.
- A mi padre por ser mi inspiración.
- Al Dr. Pedro Pablo Peláez Sánchez, por asesorarme, guiarme y acompañarme en este camino, por compartir su conocimiento conmigo e inspirar en mí mucha admiración.
- A la Ing. Msc. Elizabeth Ordóñez Gómez, al Ing. Eduardo Cáceres, al Ing. William Roldán, por asesorarme y brindarme siempre su apoyo incondicional.
- A todos los docentes y técnicos de la FACULTAD DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS, por ser los mejores, por sus sabios consejos porque sin Ustedes no sería quien soy.
- A mis amigos: Manuel, Cinthia, Katty, Luz, Marcos, Gianni, Raquel, Hans, porque gracias a ellos sé lo que es la verdadera amistad. Por ayudarme y estar conmigo a lo largo de la carrera y aún después...
- A todas las personas que se cruzaron en este camino y que me dieron palabras de aliento y apoyo, solo quiero decirles:

**¡Muchas Gracias!**

## INDICE

<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II. REVISION BIBLIOGRÁFICA</b> .....	3
<b>2.1. Camu-Camu</b> .....	3
2.1.1. Clasificación taxonómica.....	4
2.1.2. Composición química.....	4
<b>2.2. Evaluación Antioxidante</b> .....	6
2.2.1. Ácido ascórbico.....	7
2.2.2. Polifenoles totales .....	9
2.2.3. Actividad Antioxidante.....	11
<b>2.3. Concentración por evaporación</b> .....	14
<b>2.4. Envasado al vacío</b> .....	16
<b>2.5. Temperatura de almacenamiento</b> .....	17
2.5.1. Fenómenos físicos .....	18
2.5.2. Fenómenos químicos.....	18
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	19
<b>3.1. Lugar de ejecución</b> .....	19
<b>3.2. Materia prima</b> .....	19
<b>3.3. Materiales, equipos y reactivos</b> .....	20
3.3.1. Materiales de laboratorio.....	20
3.3.2. Equipos de laboratorio .....	20

3.3.3. Reactivos .....	21
<b>3.4. Métodos de análisis .....</b>	<b>21</b>
3.4.1. Análisis fisicoquímico de la pulpa de Camu-Camu .....	21
3.4.2. Cuantificación de ácido ascórbico .....	21
3.4.3. Cuantificación de polifenoles.....	22
3.4.4. Evaluación de la actividad antioxidante. ....	22
3.4.5. Cuantificación de mohos y levaduras.....	22
<b>3.5. Metodología Experimental.....</b>	<b>22</b>
3.5.1. Caracterización fisicoquímica de la Pulpa de Camu-Camu.....	22
3.5.2. Cuantificación de ácido ascórbico, polifenoles totales, evaluación de la actividad antioxidante (DPPH <sup>•</sup> , ABTS <sup>•+</sup> ) y cuantificación de mohos y levaduras en pulpa de Camu-Camu en tres estados de madurez.....	23
3.5.3. Cuantificación de ácido ascórbico, polifenoles totales, evaluación de la actividad antioxidante (DPPH <sup>•</sup> , ABTS <sup>•+</sup> ) y cuantificación de mohos y levaduras en pulpa de Camu-Camu concentrada, empacada al vacío y almacenada.....	28
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>35</b>
<b>4.1. Caracterización fisicoquímica de la pulpa de Camu-Camu.....</b>	<b>35</b>
<b>4.2. Cuantificación de ácido ascórbico, polifenoles totales, actividad antioxidante (DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup>) y cuantificación de mohos y levaduras en pulpa de Camu-Camu en tres estados de madurez .....</b>	<b>39</b>
4.2.1. Cuantificación de Ácido Ascórbico .....	40

4.2.2. Cuantificación de polifenoles totales .....	41
4.2.3. Determinación de la capacidad antioxidante (DPPH <sup>•</sup> , ABTS <sup>•+</sup> ) de la pulpa de Camu-Camu en tres estados de madurez .....	44
4.2.4. Cuantificación de mohos y levaduras.....	44
<b>4.3. Cuantificación de ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante (DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup>) y cuantificación de mohos y levaduras en pulpa de Camu-Camu concentrada, empacada al vacío y almacenada ...</b>	<b>48</b>
.....	48
4.3.1. Cuantificación de ácido ascórbico.....	48
4.3.2. Cuantificación de polifenoles totales .....	51
4.3.3. Evaluación de la actividad antioxidante.....	53
4.3.4. Cuantificación de mohos y levaduras.....	56
<b>V. CONCLUSIONES .....</b>	<b>59</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>60</b>
<b>VII. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>61</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>75</b>

## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Página</b>
1. Cuadro 1. Análisis químico de Camu-Camu en pulpa fresca.....	5
2. Cuadro 2. Análisis de micronutrientes (minerales), en pulpa fresca de Camu-Camu.....	6
3. Cuadro 3. Especies reactivas del oxígeno y sus principales características.....	15
4. Cuadro 4. Resultados de los análisis fisicoquímico de la pulpa de Camu-Camu en tres estados de madurez.....	36
5. Cuadro 5. Contenido de ácido ascórbico en la pulpa de Camu-Camu.....	40
6. Cuadro 6. Contenido de polifenoles en la pulpa de Camu-Camu.....	42
7. Cuadro 7. Coeficiente de inhibición (IC <sub>50</sub> ) de la pulpa de Camu-Camu para el radical DPPH <sup>•</sup> .....	45
8. Cuadro 8. Coeficiente de inhibición (IC <sub>50</sub> ) de la pulpa de Camu-Camu para el Cation ABTS <sup>•+</sup> .....	46
9. Cuadro 9. Contenido mohos y levaduras en la pulpa de Camu-Camu verde, pintón y maduro.....	47
10. Cuadro 10. Contenido de ácido ascórbico en la pulpa de Camu-Camu fresca y concentrada.....	49
11. Cuadro 11. Contenido de polifenoles en la pulpa de Camu-Camu fresca y concentrada al vacío.....	51

12. Cuadro 12. Coeficiente de inhibición ( $IC_{50}$ ) de la pulpa de Camu-Camu para el radical DPPH <sup>•</sup> , fresca y concentrada al vacío.....	54
13. Cuadro 13. Coeficiente de inhibición ( $IC_{50}$ ) del Cation ABTS <sup>•+</sup> para la pulpa de Camu-Camu fresca y concentrada al vacío.....	55
14. Cuadro 14. Cuantificación de mohos y levaduras en la pulpa de Camu-Camu madura fresca y concentrada al vacío.....	57

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
1. Diseño experimental para la caracterización fisicoquímica de la pulpa de Camu-Camu.....	23
2. Diseño experimental para la cuantificación de ácido ascórbico, polifenoles totales, evaluación de la capacidad antioxidante (DPPH <sup>•</sup> , ABTS <sup>•+</sup> ) y cuantificación de mohos y levaduras en pulpa de Camu-Camu en tres estados de madurez.....	27
3. Diagrama de flujo para la elaboración del concentrado a vacío de pulpa de Camu-Camu .....	29
4. Diseño experimental para la cuantificación de ácido asórbico, polifenoles totales, evaluación de la actividad antioxidante (DPPH <sup>•</sup> , ABTS <sup>•+</sup> ), y cuantificación de mohos y levaduras en pulpa de Camu-Camu concentrada al vacío.....	33
5. Contenido de polifenoles totales en pulpa de Camu-Camu en tres estados de madurez.....	42
6. Contenido de ácido ascórbico en pulpa de Camu-Camu fresca y concentrada al vacío.....	49
7. Contenido de polifenoles en pulpa de Camu-Camu fresca y concentrada al vacío.....	52

8. Comportamiento del Coeficiente de inhibición de la pulpa de Camu-Camu para el radical DPPH'	54
9. Comportamiento del Coeficiente de inhibición de pulpa de Camu-Camu para el Catión ABTS <sup>•+</sup>	56

## INDICE DE ANEXO

Anexo	Página
A-I. Fruta de Camu-Camu ( <i>Myrciaria dubia</i> Mc Vaugh H.B.K.).....	76
A-II. Análisis de varianza para el Análisis de Humedad en la pulpa de Camu-Camu en 3 estados de madurez (n=3, p<0,05).....	76
A-III. Análisis de varianza para el Análisis de Proteína en la pulpa de Camu-Camu en 3 estados de madurez (n=3, p<0,05).....	76
A – IV. Análisis de varianza para el Análisis de Grasa en la pulpa de Camu-Camu en 3 estados de madurez (n=3, p<0,05).....	77
A – V. Análisis de varianza para el Análisis de Fibra en la pulpa de Camu-Camu en 3 estados de madurez (n=3, p<0,05).....	77
A – VI. Análisis de varianza para el Análisis de Ceniza en la pulpa de Camu-Camu en 3 estados de madurez (n=3, p<0,05).....	77
A – VII. Análisis de varianza para los Sólidos Solubles (°Bx) en la pulpa de Camu-Camu en 3 estados de madurez (n=3, p<0,05).....	78
A – VIII. Análisis de varianza para % Acidez en la pulpa de Camu-Camu en 3 estados de madurez (n=3, p<0,05).....	78
A – IX. Análisis de varianza para el Índice de Madurez en la pulpa de Camu-Camu en 3 estados de madurez (n=3, p<0,05).....	78
A – X. Curva patrón para la cuantificación de ácido ascórbico.....	79

A – XI. Análisis de varianza para el contenido de Ácido Ascórbico en la pulpa de Camu-Camu en 3 estados de madurez (n=3, p<0,05).....	79
A – XII. Curva patrón para la cuantificación de polifenoles totales.....	79
A – XIII. Análisis de varianza para el contenido de Polifenoles totales para la pulpa de Camu-Camu en 3 estados de madurez (n=3, p<0,05).....	80
A – XIV. Análisis de varianza del IC <sub>50</sub> por el método del Radical DPPH <sup>•</sup> en la pulpa de Camu-Camu en tres estados de madurez (n=3, p<0,05).....	80
A – XV. Análisis de varianza del IC <sub>50</sub> por el método del Cation ABTS <sup>•+</sup> en la pulpa de Camu-Camu en tres estados de madurez (n=3, p<0,05).....	80
A – XVI. Análisis de varianza para la cuantificación de mohos y levaduras en la pulpa de Camu-Camu en 3 estados de madurez (n=3, p<0,05).....	81
A – XVII. Análisis de varianza para el Ácido Ascórbico en la pulpa de Camu-Camu fresco empacado al vacío y almacenado por 90 días a una temperatura de - 20°C. (n=3, p<0,05).....	81
A – XVIIa. Análisis de varianza para el Ácido Ascórbico en la pulpa de Camu-Camu concentrado, empacado al vacío y almacenado por 90 días a una temperatura de - 20°C. (n=3, p<0,05).....	81
A – XVIII. Análisis de varianza para el contenido de Polifenoles totales en la pulpa de Camu-Camu fresco empacado al vacío y almacenado por 90 días a una temperatura de - 20°C. (n=3, p<0,05).....	82
A – XVIIIa. Análisis de varianza para el contenido de Polifenoles totales en la pulpa de Camu-Camu concentrado, empacado al vacío y almacenado por 90 días a una temperatura de - 20°C. (n=3, p<0,05).....	82

A – XIX. Análisis de varianza del IC <sub>50</sub> por el método del Radical DPPH' en la pulpa de Camu-Camu fresco empacado al vacío y almacenado por 90 días a una temperatura de - 20°C. (n=3, p<0,05).....	82
A – XIXa. Análisis de varianza del IC <sub>50</sub> por el método del Radical DPPH' en la pulpa de Camu-Camu concentrado, empacado al vacío y almacenado por 90 días a una temperatura de - 20°C. (n=3, p<0,05).....	83
A – XX. Análisis de varianza del IC <sub>50</sub> por el método del Cation ABTS <sup>++</sup> en la pulpa de Camu-Camu fresco empacado al vacío y almacenado por 90 días a una temperatura de - 20°C. (n=3, p<0,05).....	83
A – XXa. Análisis de varianza del IC <sub>50</sub> por el método del Cation ABTS <sup>++</sup> en la pulpa de Camu-Camu concentrado, empacado al vacío y almacenado por 90 días a una temperatura de - 20°C. (n=3, p<0,05).....	83
A – XXI. Análisis de varianza para el Análisis Microbiológico de la pulpa de Camu-Camu fresco, empacado al vacío y almacenado por 90 días a una temperatura de - 20°C. (n=3, p<0,05).....	84
A – XXIa. Análisis de varianza para la cuantificación de mohos y levaduras de la pulpa de Camu-Camu concentrado, empacado al vacío y almacenado por 90 días a una temperatura de - 20°C. (n=3, p<0,05).....	84

## RESUMEN

No existe suficiente información sobre la variación de las características de la pulpa de Camu-Camu verde, pintón y madura, al estado fresco, concentrada ni almacenada en congelación; razón por la que se planteó la caracterización fisicoquímica, determinar la capacidad antioxidante y evaluar el almacenamiento en congelación, del ácido ascórbico, polifenoles totales, capacidad antioxidante y cuantificación de mohos y levaduras; de la pulpa de seleccionada, fresca y concentrada.

Se emplearon métodos de análisis fisicoquímicos (AOAC, 1 995), ácido ascórbico (GOKMEN *et. al*, 2 001), polifenoles totales (PRICE y BUTLER, 1 997), cuantificación de mohos y levaduras (ICMSF, 2 000), capacidad antioxidante DPPH<sup>•</sup> y ABTS<sup>•+</sup> (BRAND-WILLIAMS *et. al*, 1995; RE *et. al*, 1 999).

Los resultados y discusiones permitieron concluir que la pulpa de Camu-Camu madura presentó mayor contenido de ácido ascórbico y polifenoles totales, con 2068,35 y 794,14 mg x 100 g<sup>-1</sup> de pulpa fresca, respectivamente; y la pulpa concentrada al vacío en 1,99 y 1,77 veces respectivamente; produciéndose pérdidas de almacenamiento en 30,16% y 20,7%, respectivamente; así mismo presentó mayor capacidad antioxidante frente al radical DPPH<sup>•</sup> y al catión ABTS<sup>•+</sup>, con valores IC<sub>50</sub> 7,53 y 2,95 µg x mL<sup>-1</sup> respectivamente; incrementándose en 1,22 y 1,14 veces respectivamente; con pérdidas de almacenamiento de 18,2% y 12,51% respectivamente. Al inicio del almacenamiento la pulpa madura de Camu-Camu presentó mayor carga microbiana; al término del almacenamiento ambos tratamientos alcanzaron contenidos < 10 UFCxg<sup>-1</sup>.

## I. INTRODUCCIÓN

El Camu-Camu (*Myrciaria dubia* Mc Vaugh H.B.K.), es una fruta nativa que crece en la Amazonía Peruana, crece en forma natural en ríos y lagos de aguas oscuras con una capacidad de resistencia a las inundaciones. (FLORES, 1 997; RIVA, GONZALES, 1 996).

Se caracteriza por su alto contenido en ácido ascórbico presentando 2 780 mg/100g, que supera significativamente a cítricos como el limón y la naranja (VILLACHICA *et. al*, 1 998), convirtiéndose así en un poderoso antioxidante y fortalecedor del sistema inmunológico que ha despertado el interés del mercado internacional por sus propiedades funcionales y nutracéuticas.

La forma de uso del Camu-Camu es diversa, pudiendo utilizarse la pulpa en forma congelada, en el presente estudio la pulpa fue obtenida de frutos en distintos estados de madurez, para luego proceder a realizar las operaciones preliminares y poder efectuar un adecuado pulpeado del fruto, luego se procedió a concentrar la pulpa al vacío, eliminándose el 50 % del agua; seguidamente se envasó al vacío, empleándose bolsas de polietileno, con el fin de proteger la pulpa, evitando el efecto del oxígeno en las diversas reacciones de deterioro; finalmente se congelo a la temperatura de -20°C. El estudio de almacenamiento se realizó empleando pulpa congelada.

Los objetivos del presente trabajo de investigación fueron:

- Caracterizar fisicoquímicamente la pulpa de Camu-Camu en tres estados de madurez.
- Cuantificar el ácido ascórbico, polifenoles totales, evaluar la actividad antioxidante (DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>\*\*</sup>) y cuantificación de mohos y levaduras de la pulpa de Camu-Camu en tres estados de madurez.
- Cuantificar el ácido ascórbico, polifenoles totales, evaluar la actividad antioxidante (DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>\*\*</sup>) y cuantificación de mohos y levaduras de la pulpa de Camu-Camu seleccionada, concentrada al vacío, empacada al vacío y almacenada durante 90 días.

## II. REVISION BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Camu-Camu

El Camu-Camu es un frutal arbustivo nativo (A-I) de la Amazonía con una gran diversidad genética cuya creciente demanda en los mercados internacionales se basa en su elevado contenido de ácido ascórbico (2,700 mg / 100 g. de pulpa). Contiene más vitamina C que cualquier otra fruta conocida en el planeta (MINAG, 2 009). Comparada con el limón y naranja este es 63 y 30 veces más rico en vitamina C respectivamente; tiene 10 veces más hierro, 3 veces más niacina, dos veces más riboflavina y 50% más fósforo (ZAPATA y DUFOUR, 1 993). Adicionalmente, el Camu-Camu posee pequeñas cantidades de calcio, tiamina y otros poderosos elementos fitoquímicos. Estas y otras propiedades medicinales lo convierten en un poderoso antioxidante, antidepresivo, anticancerígeno, alivia problemas cardiovasculares, utilizándose también en el alivio del stress y en procesos antigripales (PINEDO *et al.*, 2 005; MINAG, 2 009).

MINAG (2 000) menciona que la pulpa del fruto maduro es comestible, es ácido, tiene sabor y aroma agradable. Se exporta generalmente como pulpa fresca, concentrada, liofilizada y se utiliza en la preparación de refrescos, néctares, mermeladas, helados, jaleas, vinagres, bebida alcohólicas y no alcohólicas; para vigorizar bebidas para deportistas, tipo nutracéutico, bebidas tipo citrus punch, etc.

### 2.1.1. Clasificación taxonómica

PINEDO *et al.* (2 005); RIVA y GONZALES (1 996), reportan la siguiente clasificación taxonómica:

División	:	Fanerógamas
Sub-división	:	Angiospermas
Clase	:	Dicotiledóneas
Orden	:	<i>Myrtales</i>
Familia	:	<i>Myrtaceae</i>
Género	:	<i>Myrciaria</i>
Especies	:	<i>Dubia</i> H.B.K.

PINEDO *et al.* (2 005), FLORES (1 997), mencionan algunos nombres comunes: Camu-Camu, Camo-Camo (Perú), guayabito (Venezuela), caçari, arazá de agua y crista de galo (Brasil), guayabo (Colombia), camu-plus (USA).

### 2.1.2. Composición química

VILLACHICA *et. al* (1 998), informa que los análisis bromatológicos muestran altas cantidades de ácido ascórbico reducido (2880 mg/100 g) y ácido ascórbico total (2994 mg/100 g). Estos valores son 63 veces más altos que en los concentrados de limón y 2,1 veces más alto que en su más cercano competidor, la acerola.

Según ZAPATA y DUFOUR (1 993), mencionan que en un estudio realizado de la composición química de la pulpa fresca en tres estados de madurez encontraron los componentes que se muestran en el Cuadro 1.

**Cuadro 1.** Análisis químico de Camu-Camu en pulpa fresca.

Parámetro	Verde	Pintón	Maduro
Ácido ascórbico (g/kg)	8.5	9.4	9.4
Ácido dehidroascórbico (g/kg)	0.2	0.3	0.3
Glucosa (g/kg)	2.2	3.6	8.2
Fructuosa (g/kg)	3.7	5.0	9.5
Ácido cítrico (g/kg)	29.8	22.9	19.8
Ácido málico (g/kg)	2.8	4.9	5.9
Acidez (Ác. Cítrico) (g/kg)	3.6	3.1	3.1
pH	2.4	2.5	2.6
Densidad relativa (20/20°C)	1026.0	1025.0	1030.0
°Brix (%)	5.6	5.5	6.8
Sólidos totales	69.8	67.7	81.0
°Brix/Acidez (relación)	1.6	1.8	2.2
Nitrógeno total	0.6	0.6	0.7
Aminoácidos (mg/kg)			
Serina	299.0	371.0	637.0
Valina	99.0	168.0	316.0
Leucina	90.0	132.0	289.0
Glutamato	88.0	100.0	119.0
4-aminobutanato	71.0	93.0	108.0
Prolina	43.0	53.0	82.0
Fenilalanina	17.0	22.0	43.0
Treonina	20.0	28.0	36.0
Alanina	17.0	28.0	34.0

Fuente: ZAPATA y DUFOUR (1 993).

**Cuadro 2.** Análisis de micronutrientes (minerales), en pulpa fresca de Camu-Camu.

Micronutrientes (mg/kg)	Verde	Pintón	Maduro
K	532	600	711
Ca	66	62	65
Mg	47	47	51
Na	49	44	27
PO <sub>4</sub>	245	256	295
SO <sub>4</sub>	219	163	132
Al	3,1	3,0	2,1
B	0,4	0,5	0,5
Cu	0,5	0,7	0,8
Fe	1,3	1,8	1,8
Mn	1,4	1,4	2,1
Zn	1,3	1,2	1,3
Cl	77	66	116

Fuente: ZAPATA y DUFOUR (1 993).

## 2.2. Evaluación Antioxidante

El Camu-Camu es un buen antioxidante natural que aporta importantes cantidades de ácido ascórbico, polifenoles totales, entre otros.

### **2.2.1. Ácido ascórbico**

El Camu-Camu es un fruto con un alto contenido de vitamina C (VILLACHICA, 1 998), compuesto que el ser humano no lo puede sintetizar y necesariamente debe ingerirlo en su dieta. Esta vitamina también puede actuar como un agente pro oxidante cuando se administra en altas dosis, especialmente cuando está en presencia de elevadas cantidades de metales de transición, generando radicales hidroxilo (COLLAZOS, 1 993).

El ácido ascórbico tiene una excelente acción reductora por sus dos grupos donadores de protones. Su capacidad para liberar y captar hidrógeno le permite intervenir en una gran cantidad de reacciones que cubren áreas tanto a nivel de absorción intestinal como inmunológico. Cuando pierde un electrón, se convierte en el radical ascorbato, por cuyo motivo es un radical libre muy poco reactivo, que lo convierte en un buen antioxidante. Su acción antioxidante reside en la capacidad para donar un átomo de hidrógeno a radicales lipídicos.

De este modo la vitamina C puede prevenir los daños producidos por los radicales libres que contribuyen al desarrollo de enfermedades relacionadas con el envejecimiento, incluyendo el cáncer y desordenes cardiovasculares (COLLAZOS, 1 993).

#### **2.2.1.1. Características**

La vitamina C, se destruye por la acción del calor; por lo tanto, es preferible consumir los alimentos que lo contienen en forma cruda o no demasiado cocidos. Además es soluble en agua y por lo tanto pasa al líquido de cocción. En contacto con el aire, se oxida y pierde actividad. También se

destruye en presencia del alcohol etílico, no se almacena en el organismo cualquier exceso que se ingiera se elimina por la orina. Por tal motivo, no es práctico ingerir dosis elevadas (AVALOS *et. al*, 2 001).

### 2.2.1.2. Propiedades

AVALOS *et. al* (2 001), menciona que las propiedades físicas y químicas del ácido ascórbico son:

Estado físico	:	Sólido
Apariencia	:	Cristales blancos
Olor	:	Sin olor
pH	:	3,0 (solución 5 mg/ml a 20°C) – 2,0 (solución 50mg/ml a 20°C).
T° de ebullición	:	Se descompone
T° de Fusión	:	190-192°C (se descompone ligeramente).
Densidad (agua)	:	1,65 kg/L a 20°C
Solubilidad	:	Soluble en agua, soluble en alcohol etílico, propin glicol y glicerol. Insoluble en éter, benceno, aceites y cloroformo.

SERRA y TRIBO (1 991), mencionan que el ácido ascórbico al ser una vitamina hidrosoluble se considera que es el antioxidante más importante del líquido extracelular, aunque participe también en el sector intracelular.

Los requerimientos de vitamina C debemos recibirlos del exterior, ya que el hombre no es incapaz de sintetizarla, diariamente se precisa entre 60-100 mg/día según la FDA; sin embargo, en determinadas circunstancias son necesarios aportes más elevados, como es el caso de intervenciones quirúrgicas, procesos infecciosos, ingesta de anticonceptivos y fumadores, (SERRA y TRIBO, 1 991).

Este ácido que actúa como antioxidante ha sido relacionado estrechamente con los compuestos polifenólicos, sin embargo, estudios indican que este ácido puede acelerar la degradación de las antocianinas produciéndose su decoloración, probablemente por el peróxido de hidrógeno que se forma durante la oxidación aeróbica del ácido ascórbico (JACKMAN *et. al*, 1 987; IVERSEN, 1 999; SING DE UGAZ, 1 997).

### **2.2.2. Polifenoles totales**

Los compuestos polifenólicos constituyen uno de los grupos de antioxidantes naturales más abundantes y ampliamente distribuidos del reino vegetal, con más de 8000 estructuras polifenólicas conocidas (DREOSTI, 2 000).

AVALOS *et. al* (2 001), menciona que son compuestos provenientes del metabolismo secundario de las plantas y se encuentran naturalmente en alimentos y bebidas de origen vegetal. Los seres humanos no somos capaces de sintetizar este tipo de compuestos, así que dependemos fundamentalmente de la ingesta de productos de origen vegetal para incorporar estas sustancias a nuestro organismo.

Desde el punto de vista químico se caracterizan por la presencia de uno o más anillos tipo benceno. Ellos se relacionan directamente con algunas características de los alimentos como son el sabor, color, la palatabilidad y el valor nutricional. Entre estos compuestos se encuentran los ácidos fenólicos y flavonoides como el ácido cumárico, la quercetina y los taninos, entre los cuales el más activo biológicamente es la epicatequina. Estos fenoles con peso molecular relativamente alto tienen un poder antioxidante 20 veces más fuerte que la vitamina E, (WEISBURGER, 1 999).

Según FRANKEL *et. al* (1 995), menciona que los polifenoles son poderosos antioxidantes que protegen a las lipoproteínas de densidad baja (LDL) del daño oxidativo, y su acción como antioxidante está relacionado no solo con su estructura química sino que también con su localización en la partícula. Pueden actuar como potentes inhibidores de la oxidación de las LDL por varios mecanismos:

- Actuando como atrapadores de radicales libres, los distintos polifenoles tienen distinta especificidad por las distintas especies oxidantes que se generan en el organismo.
- En forma indirecta actúa como agentes quelantes de iones de metales de transición, es decir; uniéndose a estos iones reduciendo la capacidad de estos metales pesados de generar radicales libres.
- Por sus propiedades de solubilidad pueden localizarse sobre la superficie de la partícula de LDL, disminuyendo el consumo de los antioxidantes propios de las LDL como vitamina E y carotenoides, y en algunos casos regenerando vitamina E oxidada en la partícula de LDL.

### **2.2.3. Actividad Antioxidante**

La actividad antioxidante es uno de los modelos de acción más importantes para la prevención y retraso de la aparición de enfermedades degenerativas relacionadas con la edad, incluyendo el cáncer, las enfermedades del corazón, las cataratas y las disfunciones cognitivas. Hay un interés creciente por conocer la capacidad antioxidante de frutas y verduras para usar su potencial como alimentos nutracéuticos o funcionales. La mayor parte de la capacidad antioxidante de frutas y vegetales se la proporciona su contenido en vitamina E, C y carotenos, así como de diferentes polifenoles (MAZZA, 2 000)

#### **2.2.3.1. Antioxidantes**

Los antioxidantes como cualquier sustancia que, a bajas concentraciones en comparación con el sustrato oxidable, retrasa o inhibe significativamente la oxidación de dicho sustrato (THOMAS, 1 994). En alimentos, los antioxidantes se presentan como constituyentes endógenos o son incorporados para mejorar la calidad del producto controlando oxidaciones y sus consecuencias adversas (SIES, 1 997).

El mecanismo por el cual los antioxidantes protegen a los alimentos de la oxidación es mediante el bloqueo de los radicales libres por medio de la donación de un electrón o átomo de hidrógeno o por desactivación de iones metálicos y oxígeno (ROJAS, 1 996).

La importancia de un antioxidante depende de su concentración, del medio donde actúa y de su habilidad para interactuar con sistemas

regeneradores. Actualmente se cree que ciertas enfermedades como la arterioesclerosis, degeneraciones ligadas al envejecimiento y el cáncer, podrían estar unidas al fenómeno de la oxidación celular mediada por radicales libres (THOMAS, 1 994).

Según THURHAN (1 990), considera que el retinol y la riboflavina son antioxidantes preventivos, es decir que mantienen la integridad estructural de los tejidos. En cambio, la vitamina E, C y los carotenoides son antioxidantes que impiden la propagación de la reacción en cadena que provocan los radicales libres, reduciendo la magnitud de la peroxidación lipídica y el daño tisular.

El ser humano dispone de varios compuestos que tienen la propiedad de ejercer una acción antioxidante; algunos de ellos son de naturaleza enzimática (endógenos), como la catalasa, superóxido, dismutasa, glutatión, reductasa, etc.; mientras que otros son de naturaleza no enzimática (exógenos), 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 (GONZALES *et. al*, 2 000).

#### **2.2.3.2. Radicales libres**

Los Radicales Libres (RL) son moléculas que en su estructura atómica presentan un electrón no apareado (aquel que ocupa una órbita atómica o molecular por sí mismo), pueden existir de forma independiente y que, debido a la inestabilidad de su configuración electrónica, son generalmente muy

reactivos. Esta reactividad es la base de su toxicidad y de su corta vida media muchas veces inferior a una milésima de segundo (THOMAS, 1 994; ROJAS, 1 996; ELEJALDE, 2 001).

La generación de RL no se ha de relacionar siempre con su toxicidad debido a que la función que desarrollan presenta dos caras opuestas, por un lado actúan como mediadores y reguladores a concentraciones fisiológicas, mientras que a concentraciones elevadas pueden actuar como potentes oxidantes citotóxicos (ROJAS, 1 996).

En los sistemas vivos se generan muchos tipos de radicales libres, siendo los más conocidos los radicales del oxígeno. Se utiliza el término Especies Reactivas del Oxígeno (reactive oxygen species, ROS) como nombre colectivo para referirse a las especies derivadas del oxígeno como oxígeno singlete ( $O_2$ ) y peróxidos de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), incluyendo tanto los derivados radicales como los no radicales, que son agentes oxidantes y/o fácilmente convertibles en radicales (la presencia de un “·” en una especie reactiva indica que ésta posee un electrón no apareado, es decir, que es un radical). De forma análoga existen Especies Reactivas del Nitrógeno (RNS), del Cloro (RCIS) y del Bromo (RBrS) (GONZALES *et. al*, 2 000; ELEJALDE, 2 001).

Nuestro organismo está expuesto a una gran variedad de ROS y RNS que pueden generarse a partir de fuentes endógenas, relacionadas con el metabolismo del oxígeno y con las diversas reacciones de defensa de nuestro sistema inmunitario o de fuentes exógenas, como el tabaco, la contaminación del aire, radiación UV, el ozono y ciertos medicamentos (DREOSTI, 2 000). Aunque la exposición a los ROS procedentes de fuentes exógenas sea extremadamente

elevada, la exposición a fuentes endógenas es mucho más importante y extensa, debido a que es un proceso que se da de forma continua en las células de nuestro organismo a lo largo de la vida (UGARTONDO, 2 009).

En el cuadro 3, se muestran las especies reactivas y sus principales características.

### **2.3. Concentración por evaporación**

GEANKOPLIS (1 982) y SHARMA *et. al* (2 003), mencionan que la evaporación es una operación unitaria que consiste en eliminar el vapor formado por la ebullición de una solución líquida obteniéndose una solución más concentrada. En la mayoría de los casos, la evaporación se refiere a la eliminación de agua de una solución acuosa.

Los alimentos se concentran para proporcionarles un aumento de la vida útil y/o incrementar su valor. Además, la concentración permite un almacenamiento más adecuado y una reducción de los costos de transporte, cuando el producto final se obtiene por restitución del agua hasta su nivel inicial. Aunque existen muchas formas para concentrar líquidos, la evaporación es la técnica más utilizada en el procesado de alimentos CASP (2 003), IBARZ *et. al* (2 000).

**Cuadro 3. Especies reactivas del oxígeno y sus principales características.**

<b>Radical</b>	<b>Nombre</b>	<b>Características</b>
$\cdot\text{OH}$	Hidroxilo	Es el más reactivo y se le ha relacionado con el daño sufrido directamente al ADN, proteínas y lípidos.
$\text{O}_2^{\cdot-}$	Superóxido	Es muy reactivo en un medio hidrofóbico, pero no puede atravesar libremente las membranas biológicas, en condiciones fisiológicas pueden transformarse en peróxido de hidrógeno.
$\text{H}_2\text{O}_2$	Peróxido de Hidrógeno	No es un radical pero puede generarlos rápidamente al estar en contacto con los iones metálicos como el fierro y cobre.
$\text{ONOO}^-$	Peroxinitrito	Se forma como producto de la reacción del radical superóxido con el ácido nítrico. Se le ha relacionado con la patología de varios desordenes neurodegenerativos, con la enfermedad de Alzheimer.  Se forma como producto de la reacción del
$\text{O}_2$	Oxígeno simple	glutati6n reducido y el radical superóxido, durante la lipoperoxidaci6n. Juega un papel importante en los procesos de mutag6nesis, envejecimiento y desordenes degenerativos.

Fuente: GONZALES *et. al* (2 000).

Muchas soluciones alimentarias son muy sensibles a la aplicación del calor, se debe trabajar bajo condiciones de vacío o baja presión para que su punto de ebullición sea más bajo, lo que permite disminuir la temperatura del tratamiento a temperaturas comprendidas entre 45°C y 80°C, reduciendo así la alteración bioquímica de los constituyentes del alimento y de esta forma se perjudiquen en menor grado. Si la ganancia cualitativa de esta práctica es evidente, la ganancia energética es en realidad baja. La alteración de los constituyentes, función del par tiempo-temperatura, puede reducirse también disminuyendo los tiempos de residencia en las instalaciones (IBARZ *et. al*, 2 000; JEANTET *et. al*, 2 005).

El evaporador rotativo, o rota vapor, se utiliza presión reducida que puede ser controlada al nivel requerido para poder realizar la evaporación del solvente a la temperatura deseada. Además la rotación del balón permite que el producto a extraer forme una película de líquido muy fino que se evapora rápidamente, favoreciendo el proceso de evaporación. Es posible de esta manera obtener productos naturales de la mejor calidad, que conserven todas las propiedades organolépticas, bioquímicas y químicas, sin aditivos de ninguna clase y sin alteración alguna, con características similares a las que tenían en las materias primas iniciales (DIBAN, 2 008).

#### **2.4. Envasado al vacío**

El envasado al vacío es un método de conservación natural que consiste en la eliminación total del aire dentro del envase, seguida de la eliminación del aire sin que sea remplazado por otro gas, mediante una máquina de envasado al

vacío; esto produce una presión diferencial entre el interior y el exterior del envase, en el caso de las películas flexibles. Este contacto entre la película impermeable y el producto crea un ambiente anaeróbico que favorece la conservación del alimento (LÓPEZ *et. al*, 2 004; PRICE, SCHEWEIGERT, 1 994).

En los productos envasados al vacío, en los que estos siguen evolucionando, al continuar con sus actividades respiratorias se produce una disminución del porcentaje de oxígeno, con lo que aumenta el vacío y se produce un aumento en la concentración de dióxido de carbono y vapor de agua; seleccionando el adecuado material de envasado a prueba de humedad y técnicas de empacado que no dejen espacios vacíos en el interior del envase, se logra la protección completa.

LÓPEZ *et. al* (2 004), mencionan que uno de los principales inconvenientes de este tipo de envasado es que en este sistema se produce un cambio de color (pardeamiento) que puede producir un cierto rechazo en el consumidor, otro de los inconvenientes que puede presentar este tipo de envasado es la acumulación de exudado en el propio envase.

## **2.5. Temperatura de almacenamiento**

Mencionan que la utilización de bajas temperaturas pueda llegar a considerarse un sistema de conservación de alimentos eficiente, se ha demostrado que la temperatura de -18 °C es un nivel adecuado y seguro para conservar los alimentos congelados. Los microorganismos no pueden crecer a esta temperatura y la acción de las enzimas es muy lenta, pero el propio

almacenamiento produce alteraciones en el alimento (SINGH y HELDMAN, 1 998; CASP y ABRIL, 2 003).

### **2.5.1. Fenómenos físicos**

Las alteraciones más importantes se deben a dos fenómenos: recristalización y sublimación, que tienen que ver con la estabilidad del hielo en el interior y en la superficie del producto. El proceso de recristalización se puede eliminar las ventajas derivadas de una congelación rápida.

La sublimación del hielo en la superficie del producto puede ocurrir durante el almacenamiento del alimento, llevándolo a la desecación y acumulación de escarcha dentro del envase; además de producirse la pérdida de peso, este proceso puede incrementar el riesgo de oxidación en la superficie.

### **2.5.2. Fenómenos químicos**

Pese a las bajas temperaturas, en la conservación de alimentos congelados, pueden producirse una serie de reacciones químicas debidas o no a procesos enzimáticos. Su influencia en la calidad de los productos es muy grande, porque estas reacciones están asociadas con los cambios en el aroma, color, por causa de la rotura de las moléculas de los pigmentos, por la aparición del pardeamiento enzimático o por auto oxidación del ácido ascórbico.

La velocidad de oxidación del ácido ascórbico depende de la temperatura de almacenamiento y del pH del producto. Pequeñas elevaciones de la temperatura por encima de  $-18^{\circ}\text{C}$  pueden influir de forma muy importante en la degradación de este ácido. La estabilidad del ácido ascórbico se incrementa cuando se reduce el pH.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Lugar de ejecución

El trabajo de investigación se ejecutó en los laboratorios Análisis de Alimentos, Planta Piloto de Frutas y Hortalizas E-5, Centro de Investigación y Desarrollo Biotecnología de la Amazonía (CIDBAM) y Centro de Investigación de Productos Naturales (CIPNA) de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicada en la ciudad de Tingo María; Provincia de Leoncio Prado; Departamento de Huánuco; ubicada a 660 m.s.n.m., con una humedad relativa de 82% y una temperatura promedio anual de 25 °C.

#### 3.2. Materia prima

Frutos de *Myrciaria dubia* Mc Vaugh (Camu-Camu) en tres estados de madurez (verde, pintón y maduro), utilizados en los ensayos preliminares y definitivos para el desarrollo de la investigación, procedieron de la Asociación de Productores de Camu-Camu del Distrito de Manantay, Provincia de Coronel Portillo, Región de Ucayali, ubicada a 150 m.s.n.m., con una temperatura media promedio de 26,4°C y una humedad promedio de 84,24 %.

El transporte se realizó en jabas de plástico de 25 kilogramos de capacidad, las jabas fueron cubiertas de papel periódico para evitar daños excesivos al fruto durante el transporte.

### **3.3. Materiales, equipos y reactivos**

#### **3.3.1. Materiales de laboratorio**

Se usaron los siguientes materiales: vasos de precipitado (100, 50 y 25 mL), fioas (1000, 50 y 10 mL), matraces (500, 250 y 50 mL), pipetas (1 y 10 mL), micropipetas (20-200 y 100-1000  $\mu$ L), tips (200 y 1000  $\mu$ L), tubos de ensayo (15 y 10 mL), microtubos (2 mL), placas petri , gradillas, microfiltros de 20  $\mu$ m, jeringas 10 mL, microjeringa 100  $\mu$ L, cubeta de polietileno (1x1x4,5 cm), bolsas de polietileno de densidad media, termómetro (0-100 °C), probeta (10 y 100 mL).

#### **3.3.2. Equipos de laboratorio**

Se usaron los siguientes equipos: pulpeadora modelo MSZ 152 (BUDAPEST HUNGARY); HPLC modelo LC-10AVP (Shimatzu Scientific, MD, USA.), equipado con: bomba modelo LC-10ATVP; columna cromatográfica C18-110R Geminis, horno de columna modelo CTO-10ASVP, detector UV-VIS modelo SPD-10AVVP; controlador modelo SCL-10AVP, software de interfase CLASS-VP, Computador Compatible USB-52X y un Inyector de muestra de capacidad de 20  $\mu$ L; espectrofotómetro Genesys 8-England (Thermo); potenciómetro modelo 3510 (JENWAY); balanza analítica modelos Scout Pro SP2001 (0,0001 g); centrifuga modelo MIKRO 22R (HETTICH), refrigeradora congeladora SIERA; empacadora de vacío (Multivac – Modelo: A300/76); desionizador de agua marca Easy Pure II RF/UV; autoclave MODELO 9000-D (NAPCO), rotavapor modelo R-3000 (BUCHI), estufa modelo ODHG-9240A (TOMOS).

### 3.3.3. Reactivos

Se utilizaron los siguientes reactivos: Solución patrón de NaOH al 0.1%N, utilizando fenolftaleína como indicador; cultivo para mohos y levaduras; 2,2-diphenyl-1-picrilhydrazyl (DPPH<sup>•</sup>, Sigma Aldrich), 2,2'-azinobis (3-etilenobenzotiazolino-6 ácido sulfónico) (ABTS<sup>•+</sup>, Sigma Aldrich), ácido ascórbico (Scharlau), persulfato de potasio (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) (Sigma Aldrich), etanol de 96°, ácido clorhídrico (HCl), ferricianuro de potasio (K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>), cloruro de hierro (FeCl<sub>3</sub>), fosfato dihidrogenado de potasio (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) (Scharlau), ácido ortofosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) (Scharlau), ácido gálico (Merck).

### 3.4. Métodos de análisis

#### 3.4.1. Análisis fisicoquímico de la pulpa de Camu-Camu

- Humedad, método N° 23.003 (AOAC, 1 995).
- Proteínas, método N° 932.07 (AOAC, 1 995).
- Grasa, método N° 930.09 (AOAC, 1 995).
- Fibra, método N° 930.20 (AOAC, 1 995).
- Ceniza, método N° 942.05 (AOAC, 1 995).
- Sólidos solubles totales (SST), método N° 932.12 (AOAC, 1 995).
- Acidez titulable (AT), método N° 642.15 (AOAC, 1 995).
- Índice madurez  $IM = SST/AT$

#### 3.4.2. Cuantificación de ácido ascórbico.

Se realizó por el método descrito por GOKMEN *et. al*, (2 001).

### **3.4.3. Cuantificación de polifenoles totales.**

Se realizó por el método de Azul de Prussian, descrito por PRICE y BUTLER (1 997).

### **3.4.4. Evaluación de la actividad antioxidante**

#### **- Radical 2,2 diphenyl-picrilhydrazyl (DPPH)**

Método del Radical 2,2 diphenyl-picrilhydrazyl (BRAND-WILLIAMS *et. al*, 1 995).

#### **- Cation 2,2 azinobis (3-benzotiazolino-6-ácido sulfónico) (ABTS)**

Método del Cation 2,2 azinobis (3-benzotiazolino-6-ácido sulfónico) (RE *et. al*, 1 999).

### **3.4.5. Cuantificación de mohos y levaduras**

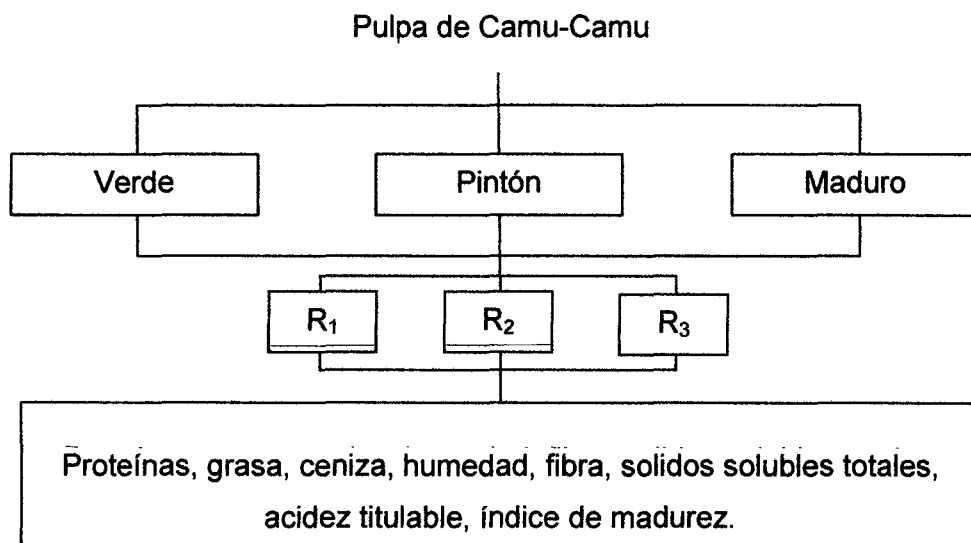
Se realizó por el método mencionado por ICMSF (2 000).

## **3.5. Metodología experimental**

### **3.5.1. Caracterización fisicoquímica de la pulpa de Camu-Camu.**

Los frutos de Camu-Camu (*Myrciaria dubia* Mc Vaugh), madura, pintón y verde, fueron seleccionadas y clasificadas de acuerdo a su color y tamaño, lavadas con agua clorada a 10 ppm sumergidas durante 15 minutos para bajar la carga microbiana, luego se enjuagaron con agua destilada, estos frutos fueron pulpeados, utilizando un tamiz de 0,5 mm de luz. La pulpa de los tres estados de madurez obtenidas se envasaron al vacío (150 mbar) en bolsas de polietileno de 4 mm de espesor con capacidad de 120-150 g cubiertas con

papel metálico y dentro de bolsas negras para protegerlos de la luz y se almacenaron a  $-20^{\circ}\text{C}$ .



Donde:  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  = Repeticiones 1, 2, 3.

**Figura 1.** Diseño experimental para la caracterización fisicoquímica de la pulpa de Camu-Camu.

**3.5.2. Cuantificación de ácido ascórbico, polifenoles totales, evaluación de la actividad antioxidante ( $\text{DPPH}^{\cdot}$ ,  $\text{ABTS}^{\cdot+}$ ) y cuantificación de mohos y levaduras en pulpa de Camu-Camu en tres estados de madurez.**

#### **3.5.2.1. Cuantificación de ácido ascórbico.**

Se preparó una solución de ácido ascórbico a concentraciones de 10, 20, 30, 40, 50 y  $60 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; se inyectó  $20 \mu\text{L}$  al HPLC y se construyó a partir de sus respectivas lecturas la curva estándar.

La pulpa de Camu-Camu, fue separada en alícuotas 1,5 ml en micro tubos, que fueron centrifugadas a 10000 rpm x 5 min<sup>-1</sup> a una temperatura de 4°C, luego de ser centrifugada se separó el sobrenadante, se utilizó un filtro de 0,2 µm e inyectó al HPLC.

Para la cuantificación de ácido ascórbico se utilizó valores la miliabsorbancia (mUA), teniendo en cuenta el tiempo de retención. Se utilizó el software Class-VP del sistema del HPLC, con el cual se obtuvo la ecuación generada por el estándar de ácido ascórbico, que se utilizó para estimar la cantidad de ácido ascórbico (mg de ácido ascórbico x 100g<sup>-1</sup> de pulpa fresca) presente en la pulpa de Camu-Camu.

### **3.5.2.2. Cuantificación de polifenoles totales**

Para la cuantificación de polifenoles se preparó una curva estándar, se utilizó soluciones de: 0,1; 0,08; 0,06; 0,04; 0,02 y 0,01 mM, cada dilución se preparó por triplicado; se agregó a cada tubo 200 µL de la soluciones e hizo reaccionar con 600 µL de FeCl<sub>3</sub> 0,1 M en HCl 0,1N por 10 min luego se adicionó 600 µL de K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> 0,008 M por 10 minutos. Con los resultados obtenidos se graficó concentración vs absorbancia, se procedió a determinar la curva patrón para poder encontrar la ecuación respectiva.

Se pesó 1 gr de pulpa fresca y diluyó en 20 mL de agua destilada y desionizada; solución a la cual se llamó extracto acuoso de 50000 µg x mL<sup>-1</sup>. Se tomaron 200 µL de extracto acuoso y se adicionó 600 µL de FeCl<sub>3</sub> 0,1 M en HCl 0,1N y 600 µL de K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> 0,008 M, la absorbancia fue registrada a 720 nm los

resultados se expresaron en equivalentes de ácido gálico (EAG) / 100 g de pulpa.

### 3.5.2.3. Evaluación de la actividad antioxidante.

#### - Radical 2,2 Diphenyl-Picrilhydrazyl (DPPH<sup>•</sup>)

Se pesó 1 gr de pulpa fresca y diluyó en 20 mL de agua destilada y desionizada cuya concentración final fue 50000  $\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ . A partir de ésta se prepararon diluciones de 550, 300, 100, 30  $\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$  para la pulpa madura; 750, 500, 300, 100  $\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$  para la pulpa pintón y 650, 300, 100 y 30  $\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$  para la pulpa verde. Se hizo reaccionar 50  $\mu\text{L}$  de las diluciones del extracto acuoso con 950  $\mu\text{L}$  de DPPH<sup>•</sup> (100 mM), en etanol al 96%, la absorbancia fue monitoreada a 517 nm, por 5 min.

#### - Catión 2,2 Azinobis (3-Benzotiazolino-6-Ácido Sulfónico) (ABTS<sup>•+</sup>)

El radical ABTS<sup>•+</sup> se formó tras la reacción de ABTS (7mM) con persulfato potásico (2,45mM) incubados a temperatura ambiente y en oscuridad durante 16h. Una vez formado el radical ABTS<sup>•+</sup> se diluyó con etanol a 96% hasta obtener un valor de absorbancia de  $0,700 \pm 0,05$  a 734nm.

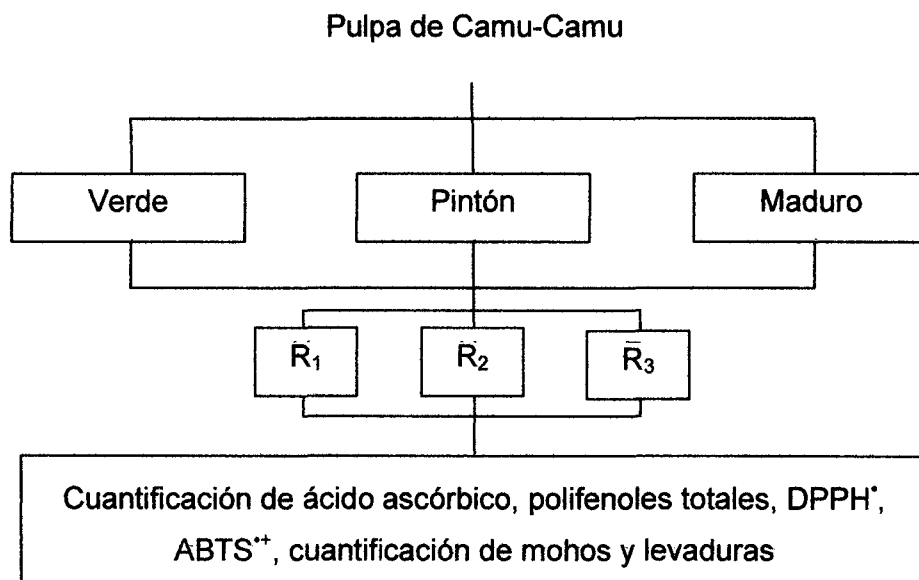
Se pesó 1 gr de pulpa fresca y diluyó en 20 mL de agua destilada y desionizada ( $50000 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ ). A partir de ésta se prepararon diluciones: 250, 100, 20, 10  $\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$  para la pulpa madura; 350, 100, 30, 10  $\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$  para la pulpa pintón y 425, 100, 30, 10  $\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$  para la pulpa verde.

Se hizo reaccionar 20  $\mu\text{L}$  de extracto de pulpa de Camu-Camu con 980  $\mu\text{L}$  de ABTS<sup>•+</sup>, hasta obtener de 20-80% de inhibición, los resultados fueron expresados en términos de IC<sub>50</sub> en  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

#### **3.5.2.4. Cuantificación de mohos y levaduras**

Se pesaron 10 gr de pulpa de Camu-Camu en los tres estados de madurez y diluyó en una solución amortiguadora de agua peptonada al 0,1% se tomaron 1 mL de muestra y se colocaron en 9 mL de agua peptonada en tubos de ensayo de 15 mL, haciendo diluciones ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ ) y todas por duplicado. De cada tubo de ensayo se tomaron 1 mL del homogenizado de la muestra, por duplicado y se colocan en placas petri estériles vacías, se adicionaron a estas de 10 a 15 mL de medio de cultivo (OGY) temperado a 44 – 45 °C, se mezcló el contenido con suaves movimientos en vaivén y giratorios, después de estar solidificadas las placas se invierten luego se dejan enfriar a temperatura ambiente por 5 días, se realizó la lectura de las colonias.

El diseño experimental aplicado para la cuantificación de ácido ascórbico, polifenoles totales, DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup> y el análisis microbiológico se presenta en la Figura 2.



Donde:

$R_1, R_2, R_3$  = Repetición 1, 2, 3 respectivamente.

DPPH<sup>·</sup> = 2,2-diphenyl-1-picrilhydrazyl.

ABTS<sup>••</sup> = 2,2'-azinobis (3-etilenobenzotiazolino- 6 ácido sulfónico).

**Figura 2.** Diseño experimental para la cuantificación de ácido ascórbico, polifenoles totales, evaluación de la capacidad antioxidante (DPPH<sup>·</sup>, ABTS<sup>••</sup>) y cuantificación de mohos y levaduras en pulpa de Camu-Camu en tres estados de madurez.

Los resultados fueron analizados estadísticamente mediante el diseño completo al azar DCA, en los tratamientos donde existió diferencia significativa se aplicó la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). El análisis de las muestras se realizó por triplicado. Los análisis estadísticos para el cálculo de  $IC_{50}$ , se realizaron

mediante regresión lineal. Los datos fueron procesados mediante el software estadístico SPSS 12,0.

### **3.5.3. Cuantificación de ácido ascórbico, polifenoles totales, evaluación de la actividad antioxidante (DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup>) y cuantificación de mohos y levaduras en pulpa de Camu-Camu concentrada, empacada al vacío y almacenada.**

Para realizar el estudio del almacenamiento se empleó los frutos de Camu-Camu del mejor estado de madurez. Estos frutos fueron sometido al vacío siguiendo el flujograma de la Figura 3, cuyas operaciones se describen a continuación:

#### **Recepción**

Se recepcionó fruto de Camu-Camu del mejor estado de madurez

#### **Selección y Clasificación**

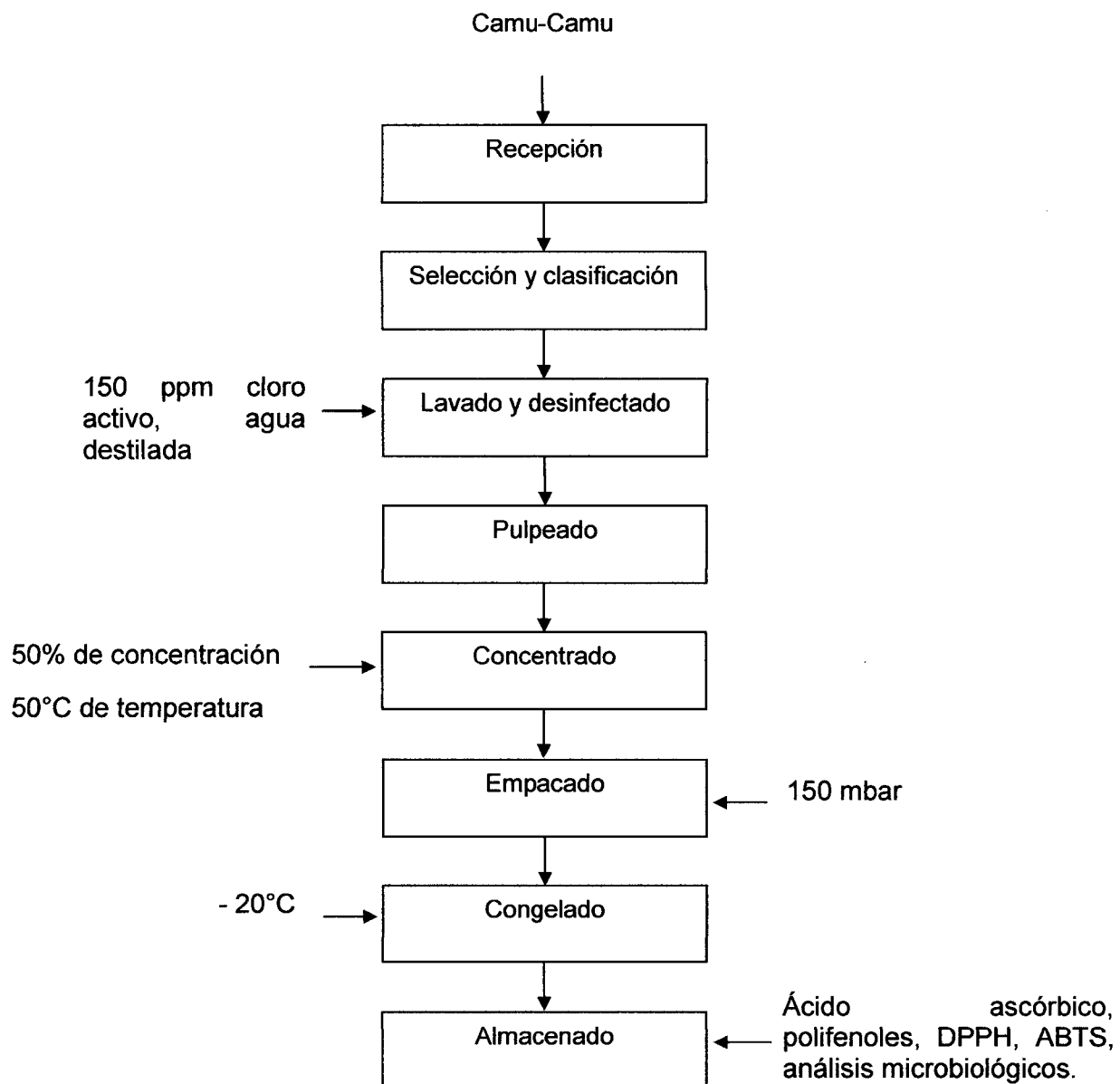
Se seleccionaron los frutos de Camu-Camu en mal estado y se separaron.

#### **Lavado y desinfectado**

Se lavaron los frutos con agua potable, luego con agua clorada a 150 ppm por 15 min, para bajar la carga microbiana, luego se enjuago con agua destilada.

#### **Pulpeado**

Los frutos fueron pulpeados y se utilizó un tamiz de 0,5 mm de luz, las cuchillas de la pulpeadora fueron cubiertas con un material de plástico para evitar que las semillas del fruto se dañen.



**Figura 3.** Diagrama de flujo para la elaboración del concentrado a vacío de pulpa de Camu-Camu.

**Concentrado**

La pulpa madura de Camu-Camu se concentro al vacío empleando un rotavapor, se colocaron 200 g de pulpa se concentró hasta 50% de su volumen inicial, a una temperatura de 50°C y una presión de vacío constante de 24 pulg Hg.

**Empacado**

La pulpa concentrada fue envasada con una empacadora a vacío (150mbar), en bolsas de polietileno de 4 mm de espesor, con capacidad de 120-150 g cubiertas con papel metálico y dentro de bolsas negras para protegerlas de la luz.

**Congelado**

Las bolsas conteniendo la pulpa fueron congeladas a -20°C.

**Almacenado**

Se almacenó en la congeladora por 90 días realizándose los análisis cada 30 días, para cada prueba se consideró tres repeticiones.

Los análisis realizados durante el almacenamiento fueron: Cuantificación de ácido ascórbico, polifenoles totales, DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup> y cuantificación de mohos y levaduras.

**3.5.3.1. Cuantificación de ácido ascórbico.**

Se preparó una solución de ácido ascórbico a concentraciones de 10, 30, 100 y 300  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , se inyectó 20  $\mu\text{L}$  de AA a 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  al HPLC y se construyó a partir de sus respectivas lecturas la curva

estándar. La pulpa de Camu-Camu, fue separada en alícuotas 1,5 ml en micro tubos, que fueron centrifugadas a  $10000 \text{ rpm} \times 5 \text{ min}^{-1}$  a una temperatura de  $4^{\circ}\text{C}$ , luego de ser centrifugada se separó el sobrenadante, se utilizó un filtro de  $0,2 \mu\text{m}$  e inyectó al HPLC.

Para la cuantificación de ácido ascórbico se utilizó valores la miliabsorbancia (mUA), se construyó la ecuación generada por el estándar de (AA), esta sirvió para estimar la cantidad de ácido ascórbico (mg AA/100g) presente en la pulpa de Camu-Camu concentrada.

### **3.5.3.2. Cuantificación de polifenoles.**

Se preparó una curva estándar, se utilizó soluciones de: 0,1; 0,08; 0,06; 0,04; 0,02 y 0,01 mM, cada dilución se preparó por triplicado; se agregó a cada tubo 200  $\mu\text{L}$  de la soluciones e hizo reaccionar con 600  $\mu\text{L}$  de  $\text{FeCl}_3$  0,1 M en HCl 0,1N por 10 min luego se adicionó 600  $\mu\text{L}$  de  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  0,008 M por 10 minutos. Con los resultados obtenidos se graficó concentración vs absorbancia, se procedió a determinar la curva patrón para poder encontrar la ecuación respectiva.

Se pesó 1 gr de pulpa concentrada y diluyó en 20 mL de agua destilada y desionizada; solución a la cual se llamó extracto acuoso de  $50000 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ . Se tomaron 200  $\mu\text{L}$  de extracto acuoso y se adicionó 600  $\mu\text{L}$  de  $\text{FeCl}_3$  0,1 M en HCl 0,1N y 600  $\mu\text{L}$  de  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  0,008 M, la absorbancia fue registrada a 720 nm; los resultados se expresaron en equivalentes de ácido gálico (EAG) / 100 g de pulpa.

### 3.5.3.3. Evaluación de la actividad antioxidante

#### - Radical 2,2 Diphenyl-Picrilhydrazyl (DPPH<sup>•</sup>)

Se pesó 1 gr de pulpa concentrada y diluyó en 20 mL de agua destilada y desionizada cuya concentración final fue  $50000 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ . A partir de ésta se prepararon diluciones de 200, 100, 20 y  $10 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$  para la pulpa concentrada. Se hizo reaccionar  $50 \mu\text{L}$  de las diluciones del extracto acuoso con  $950 \mu\text{L}$  de DPPH<sup>•</sup> (100 mM), en etanol al 96%, la absorbancia fue monitoreada a 517 nm, por 5 min.

#### - Cation 2,2 Azinobis (3-Benzotiazolino-6-Ácido Sulfónico) (ABTS<sup>•+</sup>)

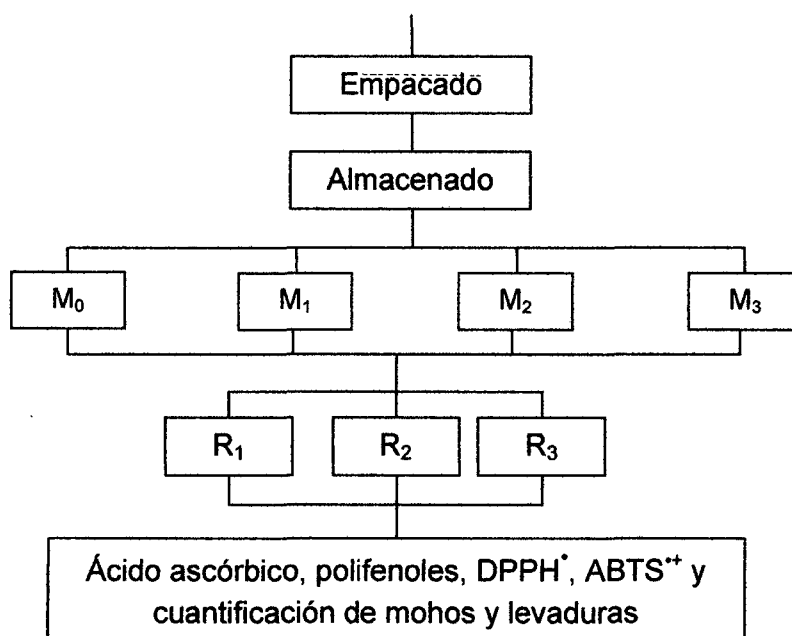
El radical ABTS<sup>•+</sup> se formó tras la reacción de ABTS (7mM) con persulfato potásico (2,45mM) incubados a temperatura ambiente y en oscuridad durante 16h. Una vez formado el radical ABTS<sup>•+</sup> se diluyó con etanol a 96% hasta obtener un valor de absorbancia de  $0,700 \pm 0,05$  a 734nm.

Se pesó 1 gr de pulpa concentrada y se diluyó en 20 mL de agua destilada y desionizada ( $50000 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ ). A partir de ésta se prepararon diluciones: 75, 50, 10 y  $5 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ . Se hizo reaccionar  $20 \mu\text{L}$  de extracto de pulpa de Camu-Camu con  $980 \mu\text{L}$  de ABTS<sup>•+</sup>, hasta obtener de 20-80% de inhibición, los resultados fueron expresados en términos de IC<sub>50</sub> en  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

### 3.5.4. Cuantificación de mohos y levaduras

La metodología seguida para la cuantificación de mohos y levaduras a este nivel se describe en el ítem 3.5.2.4.

Pulpa de Camu-Camu concentrada (mejor estado de madurez)



Leyenda:

DPPH<sup>•</sup> = 2,2-diphenyl-1-picrilhydrazyl.

ABTS<sup>••</sup> = 2,2'-azinobis (3-etilenbenzotiazolino-6 ácido sulfónico).

M<sub>0</sub>, M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, M<sub>3</sub> = Meses 0, 1, 2, 3 respectivamente.

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> = Repetición 1, 2, 3 respectivamente.

**Figura 4.** Diseño experimental para la cuantificación de ácido ascórbico, polifenoles totales y evaluación de la actividad antioxidante (DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>••</sup>) y cuantificación de mohos y levaduras en pulpa de Camu-Camu concentrada al vacío.

Los resultados fueron analizados estadísticamente mediante el diseño completo al azar DCA, en los tratamientos donde existió diferencia significativa se aplicó la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). El análisis de las muestras se realizó por

triplicado. Los análisis estadísticos para el cálculo de  $IC_{50}$ , se realizaron mediante regresión lineal. Los datos fueron procesados mediante el software estadístico SPSS 12,0

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Caracterización fisicoquímica de la pulpa de Camu-Camu

El Cuadro 4, muestra los resultados obtenidos en el análisis fisicoquímico de la pulpa de Camu-Camu en tres estados de madurez (verde, pintón y maduro), los resultados mostraron diferencias estadísticas.

De acuerdo al cuadro 4, el Camu-Camu maduro obtuvo mayor porcentaje de humedad con  $93,02 \pm 0,40$  %; seguido del pintón  $91,53 \pm 0,63$  % y verde con  $90,15 \pm 0,25$  %; habiendo diferencia significativa entre ellos (A-II) este aumento en a la humedad puede deberse a lo mencionado por OLIVEIRA *et al.* (1 999), que a medida que el fruto madura las sustancias pépticas se degradan, por lo que el producto se reblandece, así a mayor dureza menor maduración. Se observa que los resultados se asemejan a los reportados por RIVA y GONZÁLES (1 996) y FLORES (1 997), mencionan que la humedad aumenta de acuerdo como va madurando la fruta con 91,95 % a 94,40% de verde a maduro. Por otro lado RODRIGUES (2 002) y VÁSQUEZ (2 000), reportaron valores de 93,28 % y 93,33 % respectivamente para pulpa madura de Camu-Camu.

El contenido de proteína fue de 0,43 % en la pulpa verde; 0,46 % para el pintón y 0,52 % para la pulpa de Camu-Camu maduro, encontrándose diferencia estadísticas significativas (A-III) entre los estados de madurez. FENNEMA (1 993), indica que por lo general los frutos son considerados como fuentes

**Cuadro 4.** Resultados del análisis fisicoquímico de la pulpa de Camu-Camu en tres estados de madurez

Componente	Estado de madurez					
	Verde		Pintón		Maduro	
	Base Húmeda	Base Seca	Base Húmeda	Base Seca	Base Húmeda	Base Seca
Humedad (%)	90,15 ± 0,25 <sup>c</sup>	0	91,53 ± 0,63 <sup>b</sup>	0	93,02 ± 0,40 <sup>a</sup>	0
Proteína (%)	0,0424	0,43 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,0390	0,46 ± 0,01 <sup>ab</sup>	0,0361	0,52 ± 0,02 <sup>a</sup>
Grasa (%)	0,0164	0,17 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,0161	0,19 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,0163	0,23 ± 0,01 <sup>a</sup>
Fibra (%)	0,0608	0,62 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,0553	0,65 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,0475	0,68 ± 0,03 <sup>a</sup>
Ceniza (%)	0,0161	0,16 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,0152	0,18 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,0156	0,22 ± 0,02 <sup>a</sup>
SST (°Brix)	4,8 ± 0,051 <sup>c</sup>	-	5,8 ± 0,051 <sup>b</sup>	-	6,8 ± 0,089 <sup>a</sup>	-
AT (%)**	2,53 ± 0,042 <sup>a</sup>	-	2,43 ± 0,012 <sup>b</sup>	-	2,30 ± 0,024 <sup>c</sup>	-
IM	1,91 ± 0,014 <sup>c</sup>	-	2,37 ± 0,019 <sup>b</sup>	-	2,96 ± 0,059 <sup>a</sup>	-

Los resultados son los promedios de tres repeticiones, seguido de la desviación estándar, valores de una misma fila con diferente superíndice  $p \leq 0,05$ . (N\*6,25)

\*\*Expresado en % de ácido cítrico.

deficientes de proteínas (0,2% y 1,3%). VILLACHICA (1 996), SALVADOR (1 997) y GONZALES (2 007), menciona el 0,5% para proteínas en pulpa de Camu-Camu maduro.

El contenido de grasa de acuerdo al cuadro 4, muestran valores de 0,17%; 0,19% y 0,23% para la pulpa verde, pintón y maduro respectivamente; los que muestran diferencias estadísticas significativas (A-IV) entre los estados de madurez. Al respecto VILA (2 006), menciona que el contenido lipídico en frutas generalmente es menor del 0,5 - 0,6 % y VÁSQUEZ (2 000); JUSTI, *et al* (2 000) mencionan que no suele superar el 1 % y varía con el producto, valores que se encuentran dentro de los resultados encontrados en la presente investigación.

El contenido de fibra varía de  $0,62 \pm 0,03$  %;  $0,65 \pm 0,01$  % y  $0,68 \pm 0,01$  % para pulpa de Camu-Camu verde, pintón y maduro respectivamente, encontrando diferencias estadísticas significativas (A-V). EGAN *et. al* (1 993), mencionan que la fibra es mayor en frutos verdes y menor en frutos maduros, coincidiendo con los resultados encontrados en el trabajo de investigación. Así mismo VILLACHICA *et. al* (1 998), VÁSQUEZ (2 000), reportaron porcentajes para la fibra en pulpa de Camu-Camu maduro de 0,6 y 0,58 respectivamente.

Los porcentajes de ceniza en pulpa de Camu-Camu fueron de  $0,16 \pm 0,01$ ;  $0,18 \pm 0,01$  y  $0,22 \pm 0,02$  para verde, pintón y maduro respectivamente, los que tuvieron diferencias estadísticas significativas (A-VI). Así mismo RODRIGUES (2 002); VÁSQUEZ (2 000), reportan porcentajes de 0,24 y 0,26 respectivamente para pulpa de Camu-Camu madura. El porcentaje de ceniza en la fruta de Camu-Camu fue bajo en comparación a otras frutas, por lo tanto su importancia nutricional es menor en este aspecto; es importante señalar que la composición

de ceniza es la cantidad de minerales presentes en los alimentos (RODRIGUES y MARX, 2 006).

El contenido de sólidos solubles (°Brix), fueron de  $4,8 \pm 0,051$ ;  $5,8 \pm 0,051$  y  $6,8 \pm 0,089$  para verde, pintón y maduro respectivamente demostrando diferencias estadísticas significativas (A-VII), se observa que los °Brix aumentan cuando la fruta va madurando; comparando así los valores de °Brix encontrados por ZAPATA y DUFOUR (1 993) con valores de 5,6; 5,5 y 6,8 °Brix para verde, pintón y maduro respectivamente aumentando del mismo modo; SILVA y ANDRADE (1 996), reportaron 6,4 y 6,36 °Brix para frutos verde y maduro respectivamente; MAEDA *et. al* (2 006), menciona un valor de 6,2 °Brix para frutos maduros. Así mismo GOMES *et. al* (2 002); ANDRADE *et. al* (2 005) y ALVES (1 996), mencionan que los sólidos solubles totales son usados como índice de maduración para algunos frutos, e indican la cantidad de sustancias que se encuentran disueltas en el jugo, siendo constituidos en su mayoría por azúcares; el contenido de azúcar aumenta con la maduración del fruto, por el mismo hecho de que los almidones se van hidrolizando hasta formar azúcares.

El porcentaje de acidez en las muestras fueron de  $2,53 \pm 0,042$ ;  $2,43 \pm 0,012$ ;  $2,30 \pm 0,024$ ; para la pulpa de Camu-Camu verde, pintón y maduro respectivamente, encontrándose una diferencia estadística significativa (A-VIII). Al respecto RODRIGUES (2 002), menciona que en la mayoría de los frutos la acidez decrece gradualmente con el proceso de maduración jugando un papel importante en el balance acidez/azúcar y por ende influyendo en el sabor y aroma de los frutos. VILA (2 006), menciona que la acidez de los zumos varía en función de factores como variedad, zona y tipo de cultivo, maduración, etc., entre

límites muy amplios. SILVA y ANDRADE (1 996) determinaron valores de 2,86 y 2,63 en pulpa de Camu-Camu verde y madura, cosechado en la proximidades de Manaus; ZAPATA y DUFOUR (1 993) valores de 3,55; 3,08 y 3,08 para pulpa verde, pintón y maduro respectivamente, en muestras de Iquitos, disminuyendo durante su maduración.

Los valores de índice de madurez las muestras se presentan en el cuadro 4, realizando el análisis estadístico se mostró que existió diferencia estadística significativa entre las características evaluadas (A-IX), destacando el estado maduro con un índice de madurez de  $2,96 \pm 0,059$ ; seguido del pintón  $2,37 \pm 0,019$  y  $1,91 \pm 0,014$  del verde, aumentando durante la madurez. Los resultados obtenidos son relativamente parecidos con los obtenidos por ZAPATA y DUFOUR (1 993), ya que determinó valores de 2,2; 1,8 y 1,6; mientras que VILLANUEVA (2 003), obtuvo valores de: 2,41; 1,90; y 1,31 para el índice de madurez del fruto de Camu-Camu maduro, pintón y verde respectivamente. ELESBAO *et. al* (2 002), demostró que los °Brix del Camu-Camu pueden variar de acuerdo al lugar donde se cultivan; por tanto el índice de madurez varía de acuerdo a la zona de cultivo del fruto; así mismo menciona que durante la maduración de los frutos hay un aumento progresivo en la concentración de los sólidos solubles, sobre todo azúcares y un descenso en la acidez; por esto la relación °Brix/Acidez aumenta cuando avanza la maduración.

#### **4.2. Cuantificación de ácido ascórbico, polifenoles totales, actividad antioxidante (DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup>) y cuantificación de mohos y levaduras en pulpa de Camu-Camu en tres estados de madurez.**

#### 4.2.1. Cuantificación de Ácido Ascórbico

En el Cuadro 5, se muestran los contenidos de ácido ascórbico en la pulpa de Camu-Camu, obtenidos a partir de la curva de calibración (A-X), estos resultados mostraron diferencias estadísticas entre los estados de madurez (A-XI).

**Cuadro 5.** Contenido de ácido ascórbico en la pulpa de Camu-Camu.

Estado de madurez	mg AA x 100 g <sup>-1</sup> de pulpa fresca
Verde	1694,79 ± 73,89 <sup>c</sup>
Pintón	1856,02 ± 32,21 <sup>b</sup>
Maduro	2068,35 ± 36,59 <sup>a</sup>

Los resultados son los promedios de tres repeticiones seguido de la desviación estándar, diferente superíndice difieren  $p \leq 0,05$ .

De los resultados reportados se puede apreciar que entre los estados de madurez el mayor contenido de ácido ascórbico fue el de la pulpa de Camu-Camu maduro 2068,35 ± 36,59 mg AA x 100 g<sup>-1</sup> de pulpa fresca, este valor se encuentra muy cercano con los datos mencionados por GUIJA *et. al* (2 005) y ALVES *et. al* (2 002) quienes reportaron 2100,00 y 2061,04 mg x 100 g<sup>-1</sup> de pulpa madura de Camu-Camu respectivamente; Así mismo, ZAPATA y DUFOUR (1 993) y ANDRADE *et. al* (2 005), indican que el máximo contenido de ácido ascórbico se encuentra en la fruta de pulpa madura.

El estado de madurez verde tuvo el menor contenido de ácido ascórbico 1694,79 ± 73,89 mg AA x 100 g<sup>-1</sup> de pulpa fresca, esto puede ser debido a lo explicado por BRICEÑO *et. al* (2 005) los cambios en la taza

respiratoria son acompañados de cambios químicos y bioquímicos en el fruto, de los cuales se han presentado cambios en el contenido de azúcares, almidón, acidez y vitaminas. ANDRADE *et al.* (2 005) y JUSTI *et al.* (2 000), encontraron que el contenido de ácido ascórbico en la pulpa depende del grado de madurez. Sin embargo, existen diferencias sobre la máxima producción de ácido ascórbico.

De acuerdo a los resultados obtenidos referidos al contenido de ácido ascórbico RODRIGUES *et. al* (2 001) menciona que es importante tener en cuenta los diferentes factores que contribuyen a la variación del contenido de ácido ascórbico como el origen, la lluvia abundante, la calidad del suelo, la cantidad de radiación solar, así como el método utilizado para su cuantificación.

Según los resultados encontrados para pulpa de Camu-Camu el contenido de ácido ascórbico se encuentra en un rango de 1694,79 a 2068,35 mg AA x 100 g<sup>-1</sup> de pulpa fresca, en comparación con otras frutas el Camu-Camu posee una mayor cantidad de ácido ascórbico. FERNANDEZ *et. al*, (2 009) comparando con un vaso de Camu-Camu equivale a 139 vasos de jugo de piña, 126 vasos de jugo de maracuyá, 66 vasos de jugo de fresa, 63 vasos de jugo de limón, 30 vasos de naranja, 26 vasos de jugo de marañón y 2 vasos de jugo de acerola.

#### **4.2.2. Cuantificación de polifenoles totales**

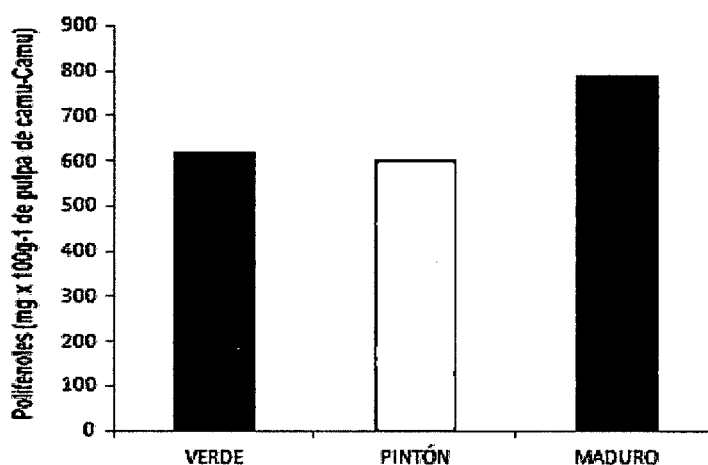
El contenido de polifenoles totales en la pulpa de Camu-Camu en tres estados de madurez obtenidos a partir de la curva de calibración (A-XII), se muestra en el Cuadro 6 y Figura 5, realizando el análisis estadístico a los

resultados se encontró diferencia significativa en los tres estados de madurez (A-XIII).

**Cuadro 6.** Contenido de polifenoles totales en la pulpa de Camu-Camu.

Estado de madurez	mg EAG x 100 g <sup>-1</sup> de pulpa fresca
Verde	621,42 ± 0,08 <sup>b</sup>
Pintón	601,52 ± 0,04 <sup>c</sup>
Maduro	794,14 ± 0,02 <sup>a</sup>

Los resultados son los promedios de tres repeticiones seguido de la desviación estándar, diferente superíndice difieren  $p \leq 0,05$ .



**Figura 5.** Contenido de polifenoles totales en pulpa de Camu-Camu en tres estados de madurez.

Realizando la comparación de los promedios mediante la prueba de tukey ( $p \leq 0,05$ ) se puede apreciar que el mayor contenido de polifenoles totales se encontró en la pulpa de Camu-Camu maduro  $794,14 \pm 0,02$  mg EAG x 100 g<sup>-1</sup> de pulpa fresca. Este comportamiento puede deberse a lo reportado por PARK

*et. al* (2 006) que menciona que una vez iniciado la maduración de los frutos existe la presencia del etileno el cual es conocido como una hormona de maduración y provoca cambios en la composición de los frutos, por lo que en frutos maduros la presencia del etileno favorece un aumento en la concentración polifenólica.

En la investigación al momento de preparar la pulpa se utilizó el fruto completo (cáscara, pulpa y semilla) pasando por un tamiz en el cual quedan retenidas partes de cáscara y semillas; de acuerdo a esto podemos mencionar que el alto contenido de polifenoles encontrados en el presente estudio puede deberse en gran medida al pulpeado, que consiste en la extracción de la pulpa mediante el estrujamiento, separándola de la cáscara y semillas, pues la acción mecánica rompe las células epiteliales conteniendo componentes bioactivos como los polifenoles, mezclándose y llevándose a cabo la difusión de componentes desde la cáscara hacia la pulpa, aumentando así el contenido de polifenoles en la pulpa (CONDE *et. al*, 2 007).

Del mismo cuadro y figura se puede apreciar que el menor contenido de polifenoles totales lo presentó el estado de madurez pintón 601,52 mg EAG x 100 g<sup>-1</sup> de pulpa fresca; al respecto DÍAZ (2 010) indica que la madurez influye directamente el contenido de compuestos bioactivos dado que se generan en la madurez procesos de biosíntesis los que generan mayor contenido de carotenoides, compuestos fenólicos, ácido ascórbico, etc.

Se ha establecido que la capacidad antioxidante está asociada a la concentración de polifenoles totales; a mayor concentración de fenoles totales, mayor es la actividad antioxidante (BADERSCHNEIDER *et. al*, 1 999).

Comparando entre el contenido de polifenoles con otras frutas, DIAZ (2 010) menciona 75 mg equiv. AG/100g en noni; KUSKOSKI *et. al* (2 005) menciona valores de guayaba 83 mg equiv. AG/100g, maracuyá 20 mg equiv. AG/100g y copoasú 20,5 mg equiv. AG/100g.

#### **4.2.3. Evaluación de la actividad antioxidante (DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup>) de la pulpa de Camu-Camu en tres estados de madurez**

##### **- Radical 2,2 Diphenyl-Picrilhydrazyl (DPPH<sup>•</sup>)**

Los resultados se muestran en el Cuadro 7, realizando el análisis estadístico se encontró que entre los tratamiento existió diferencia estadística significativa (A-XIV). Calculando los promedios según la prueba de Tuckey ( $p < 0,05$ ) se encontró que el mejor tratamiento correspondió al estado de madurez maduro con  $IC_{50} 7,53 \pm 0,11 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ ; esto puede ser explicado a lo mencionado por SULLÓN (2 009) quien concluye que el noni en estado maduro es el que ofrece la mayor capacidad antioxidante, e indica que durante la maduración podrían generarse productos de consideración o incremento en algunos compuestos fenólicos que aportan mayor capacidad antioxidante. Así mismo, RAMOS *et al.* (2 008) y MARX *e.t al* (2 008) indican que la actividad antioxidante, está fuertemente correlacionada con el contenido polifenoles y ácido ascórbico siendo muy elevada para el Camu-Camu.

El estado de madurez que presento menor capacidad antioxidante de acuerdo con los datos obtenidos en la investigación fue el pintón  $10,52 \pm 0,14 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ ; esto podría deberse a que la variación de la capacidad antioxidante no solo viene dada por la suma de la actividad antioxidante de cada componente

sino también depende del microambiente en el que se encuentre el compuesto, pudiendo interactuar entre sí, produciendo efecto sinérgico o inhibitorios (PINEDA *et al.*, 1 999 y MUÑOZ *et al.*, 2 007). Otros factores de variabilidad de los componentes que incrementan o disminuyen la actividad antioxidante son el tipo de suelo, clima, contaminación ambiental, el grado de maduración entre otros (PINEDA, 2 005).

**Cuadro 7.** Coeficiente de inhibición ( $IC_{50}$ ) de la pulpa de Camu-Camu para el radical DPPH $^{\bullet}$ .

Estado de madurez	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ )
Verde	$9,33 \pm 0,14^b$
Pintón	$10,52 \pm 0,14^c$
Maduro	$7,53 \pm 0,11^a$

Los resultados son los promedios de tres repeticiones seguido de la desviación estándar, diferente superíndice difieren  $p \leq 0,05$ .

Comparando los resultados referidos al  $IC_{50}$  con otras frutas se mencionan  $1\ 328 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$  en fresa;  $1\ 743 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$  en mango;  $431 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$  en cayoasú;  $1\ 007 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$  en guayaba (KUSKOSKI *et al.*, 2 005).

**- Cati3n 2,2 Azinobis (3-Benzotiazolino-6-3c3dico Sulf3nico)  
(ABTS $^{+\bullet}$ )**

Los resultados de la evaluaci3n de la actividad antioxidante se muestran en el Cuadro 8, encontr3ndose diferencia significativa en los 3 estados de madurez (A-XV).

De los resultados obtenidos se encontró que el estado de madurez maduro fue el que obtuvo menor  $IC_{50}$   $2,95 \pm 0,044 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$  por tanto se podría decir que la pulpa madura posee mayor capacidad antioxidante a comparación del verde y pintón  $3,99 \pm 0,05$ ;  $3,58 \pm 0,003 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$  respectivamente. Según HUANG *et. al.* (2 005), citado por BURNEO (2 009), mencionan que el  $IC_{50}$  es inversamente proporcional a la actividad antioxidante, es decir, valores mayores de  $IC_{50}$  indican una menor actividad antioxidante y viceversa.

Con respecto a los resultados REPO y ENCINA, 2 008; PADILLA *et. al.*, 2 008; PINEDA *et. al.*, 1 999; indican que la actividad antioxidante se debe a la presencia de compuestos bioactivos como la vitamina C, E,  $\beta$ -caroteno, y una mezcla compleja de compuestos fenólicos que aportan mayor actividad antioxidante.

**Cuadro 8.** Coeficiente de inhibición ( $IC_{50}$ ) de la pulpa de Camu-Camu para el Cation ABTS<sup>++</sup>.

Estado de Madurez	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ )
Verde	$3,99 \pm 0,05$ <sup>c</sup>
Pintón	$3,58 \pm 0,003$ <sup>b</sup>
Maduro	$2,95 \pm 0,044$ <sup>a</sup>

Los resultados son los promedios de tres repeticiones seguido de la desviación estándar, diferente superíndice difieren  $p \leq 0,05$ .

Como podemos apreciar la pulpa de Camu-Camu tiene una excelente actividad antioxidante frente al radical ABTS<sup>++</sup>, comparando los resultados obtenidos con fresa  $2\ 025 \pm 0,5 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ ; mango  $2\ 247 \pm 4,6 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ ; copeasú

$370 \pm 0,0 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ , guayaba  $1\ 200 \pm 4,5 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ , mencionados por KUSKOSKI *et. al*, 2 005 .

#### 4.2.4. Cuantificación de mohos y levaduras

En el Cuadro 9, se muestra el contenido de mohos y levaduras en la pulpa de Camu-Camu en verde, pintón y maduro, encontrando diferencia estadística entre ellos (A-XVI). De los resultados podemos indicar que el estado que obtuvo mayor cantidad fue el estado maduro con  $89,0 \times 10^3 \pm 16 \text{ UFC / g}$  de pulpa seguido del verde y pintón con  $39,0 \pm 53$  y  $9,0 \pm 11 \text{ UFC / g}$  de pulpa.

**Cuadro 9.** Contenido de mohos y levaduras en la pulpa de Camu-Camu verde, pintón y maduro.

Estado de madurez	UFC / g de pulpa
Verde	$39,0^b$
Pintón	$9,0^c$
Maduro	$89,0 \times 10^3^a$

Los resultados son los promedios de tres repeticiones seguido de la desviación estándar, diferente superíndice difieren  $p \leq 0,05$ .

Los parámetros microbiológicos establecidos en la Norma Técnica Peruana para pulpa de Camu-Camu (NTP011.0312007), elaborada por INDECOPI (2 007) indican que debe tener  $< 10 \text{ UFC / g}$  de pulpa para mohos y levaduras, habiéndose encontrado una mayor cantidad de microorganismos en la fruta analizada, lo que podría ser explicado por RAMOS *et. al*, mencionando que durante las operaciones de procesado y distribución, los alimentos pueden contaminarse con una gran variedad de microorganismos.

De los resultados obtenidos respecto al ácido ascórbico la pulpa madura obtuvo  $2068,35 \pm 36,59$  mg AA x  $100 \text{ g}^{-1}$ ; polifenoles  $794,14 \pm 0,02$  mg EAG x  $100 \text{ g}^{-1}$ ; frente al radical DPPH $^{\bullet}$   $7,53 \pm 0,11$   $\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$  y ABTS $^{+\bullet}$   $2,95 \pm 0,044$   $\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ .

De lo que podemos destacar que la pulpa con mayores contenidos y la que mejor reacciona frente a estos dos radicales es la pulpa madura y la que se utilizó para los siguientes análisis.

### **4.3. Cuantificación de ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante (DPPH $^{\bullet}$ , ABTS $^{+\bullet}$ ) y cuantificación de mohos y levaduras en pulpa de Camu-Camu concentrada, empacada al vacío y almacenada**

#### **4.3.1. Cuantificación de Ácido Ascórbico**

En el Cuadro 10 y Figura 6, se muestra el contenido de ácido ascórbico en la pulpa de Camu-Camu fresca y concentrada al vacío; en ambos casos empacados al vacío y almacenado por 90 días, a una temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ . Estos resultados mostraron diferencias estadísticas entre los tratamientos (A-XVII).

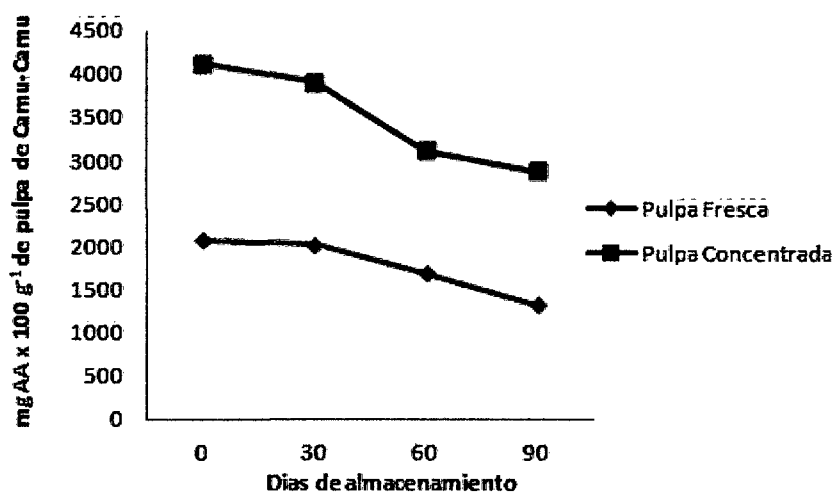
En el presente trabajo de investigación se puede observar que el ácido ascórbico aumentó en un 1,99 veces al inicio del almacenamiento, esto podría deberse a lo mencionado por RAMOS *et. al*, 2 002 que en la concentración a vacío se elimina principalmente agua y compuestos volátiles, produciéndose el incremento del resto de componentes. Así mismo SHARMA *et. al* (2 003), JEANTET *et. al* (2 005) e IBARZ *et. al*, (2 000), mencionan que la evaporación a vacío se utiliza a fin de aumentar la velocidad de evaporación y

reducir el punto de ebullición de la solución de modo que se reduzca al mínimo la degradación del producto por el calor.

**Cuadro 10.** Contenido de ácido ascórbico en la pulpa de Camu-Camu fresca y concentrada.

Almacenamiento	Pulpa fresca	Pulpa concentrada
Días	mg AA x 100 g <sup>-1</sup>	mg AA x 100 g <sup>-1</sup>
0	2068,35 ± 36,59 <sup>d</sup>	4120,28 ± 38,04 <sup>b</sup>
30	2019,00 ± 30,86 <sup>c</sup>	3901,00 ± 159,98 <sup>b</sup>
60	1678,91 ± 42,60 <sup>b</sup>	3107,08 ± 170,96 <sup>a</sup>
90	1320,11 ± 47,21 <sup>a</sup>	2877,45 ± 61,77 <sup>a</sup>

Los resultados son los promedios de tres repeticiones seguido de la desviación estándar, valores de una misma columna con diferente superíndice difieren  $p \leq 0,05$ .



**Figura 6.** Contenido de ácido ascórbico en pulpa de Camu-Camu fresca y concentrada al vacío.

Se observan los resultados que durante el almacenamiento por 90 días de la pulpa fresca y de la pulpa concentrada se han encontrado pérdidas de 36,18% y 30,16% en ácido ascórbico respectivamente; esto podría deberse a lo mencionado por SULLÓN (2 009) y VEGA (2 001) que el ácido ascórbico es muy sensible, aún a calentamientos ligeros, a la acción de la luz, a la acción de agentes oxidantes e iones metálicos. Así mismo, NICOLI *et. al* (1 999), menciona que durante el procesado de alimentos existen pérdidas relevantes de ácido ascórbico por ser termolábil, así como durante su almacenamiento.

Comparando los resultados referidos a la cantidad de ácido ascórbico durante el almacenamiento podemos decir que el Camu-Camu fresco obtuvo relativamente menores pérdidas comparados a los resultados de MEJÍA *et. al* (2 006), quien menciona que el tiempo de almacenamiento influye en forma negativa en la cuantificación de ácido ascórbico con pérdidas de 37% en la fruta de arazá durante 4 meses a -20°C; YAMASHITA *et. al* (2 003) observa con pérdidas de 43% de ácido ascórbico en acerola almacenadas entre -12°C y -18°C durante 4 meses y COELHO *et. al* (1 987) observaron pérdidas de 85,8% y 100% de ácido ascórbico en pulpa en tamarindo almacenada por 3 meses a -10°C.

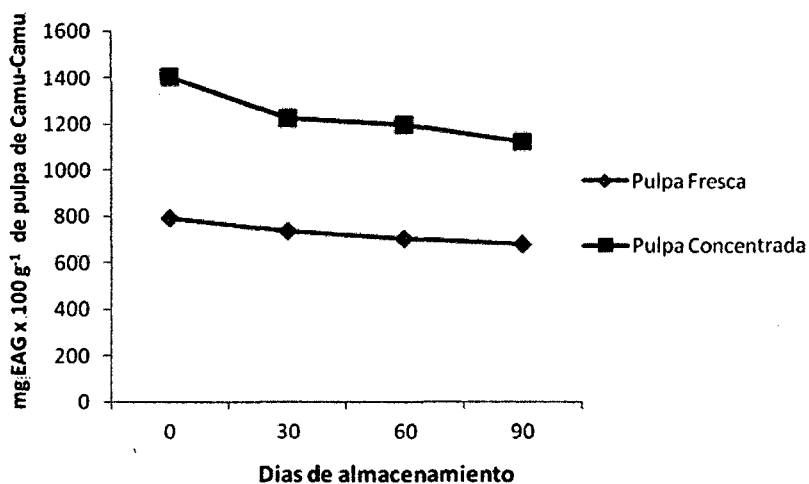
#### **4.3.2. Cuantificación de polifenoles totales**

En el cuadro 11 y figura 7, se muestra el contenido de polifenoles totales de la pulpa fresca y concentrada al vacío de Camu-Camu; en ambos casos empacados al vacío y almacenado de 0 a 90 días a una temperatura de -20°C; mostrando diferencias estadísticas para cada tratamiento (A-XVIII).

**Cuadro 11.** Contenido de polifenoles en la pulpa de Camu-Camu fresca y concentrada al vacío.

Almacenamiento	Pulpa fresca	Pulpa concentrada
Días	mg EAG x 100 g <sup>-1</sup>	mg EAG x 100 g <sup>-1</sup>
0	794,14 ± 0,02 <sup>d</sup>	1401,68 ± 0,02 <sup>d</sup>
30	737,03 ± 0,01 <sup>c</sup>	1226,47 ± 0,05 <sup>c</sup>
60	702,23 ± 0,11 <sup>b</sup>	1194,48 ± 0,08 <sup>b</sup>
90	681,19 ± 0,02 <sup>a</sup>	1120,34 ± 0,08 <sup>a</sup>

Los resultados son los promedios de tres repeticiones seguido de la desviación estándar, valores de una misma columna con diferente superíndice difieren  $p \leq 0,05$ .



**Figura 7.** Contenido de polifenoles en pulpa de Camu-Camu fresca y concentrada al vacío.

Al concentrar la pulpa fresca se produjo un aumento en la concentración de polifenoles en aproximadamente 17,7 veces, de acuerdo con lo mencionado por RAMOS et. al, 2 002 podría deberse a que en la concentración se elimina principalmente agua y compuestos volátiles, produciéndose el

incremento del resto de componentes. Así mismo RICE-EVANS *et. al* (1 995), ARNOUS *et. al* (2 001), YAMAGUCHI *et. al* (1 999) y PALADINO (2 008), mencionan que el aumento de temperatura favorece la extracción de polifenoles; estas diferencias pueden explicarse por la tendencia que tienen los fenoles de combinarse entre sí a través de reacciones de polimerización, los oligómeros tienen mayor actividad antirradical que los monómeros.

Durante el almacenamiento de la pulpa de Camu-Camu fresca se observaron pérdidas en el contenido de polifenoles de 14,22% y 20,07% para la pulpa fresca y concentrada respectivamente. Debido, posiblemente a lo mencionado por DÍAZ (2 010) que existen pérdidas de polifenoles debido a las reacciones de deterioro durante el tiempo de almacenamiento en gran medida, y preliminarmente, por efecto de la temperatura a la que fue sometida la pulpa, durante la operación de concentrado; el procesamiento térmico podría afectar los fitoquímicos por descomposición térmica que afectan la integridad de la estructura de la célula lo que resulta en la migración de componentes, conduciendo a las pérdidas por fuga, descomposición por varias reacciones químicas que involucran enzimas, luz y oxígeno.

Comparando los resultados obtenidos referente al contenido de polifenoles podemos mencionar se relacionan en pérdidas según MARQUEZ y GALVÃO (2 009), quienes mencionan que en pulpa de acerola el contenido de antocianinas disminuyó significativamente cuando se almacenó en congelación a -18°C con pérdidas de 15 % a 30 %; pero supera a MEJÍA *et. al* (2 006), quienes mencionan que el tiempo de almacenamiento influye en forma negativa en la

concentración de compuestos fenólicos totales mostrando pérdidas de 85,5% en la fruta de arazá durante 4 meses a -20°C.

#### **4.3.3. Evaluación de la actividad antioxidante**

##### **- Radical 2,2 Diphenyl-Picrilhydrazyl (DPPH<sup>•</sup>)**

En el cuadro 12 y figura 8, se muestran los resultados de la evaluación de la capacidad antioxidante mediante el radical DPPH<sup>•</sup>, medido por el Coeficiente de Inhibición (IC<sub>50</sub>), en la pulpa de Camu-Camu fresca y concentrada al vacío; en ambos casos empacados al vacío y almacenado por 90 días a una temperatura de - 20°C; mostrando diferencias estadísticas entre cada mes. (A-XIX).

El IC<sub>50</sub> de la pulpa fresca disminuyó en 45,93% del valor de la pulpa concentrada a vacío de Camu-Camu, lo que indica que el proceso de concentración en la pulpa de Camu-Camu aumenta su actividad antioxidante convirtiéndolo en un producto más efectivo para reducir el estrés oxidativo de las células.

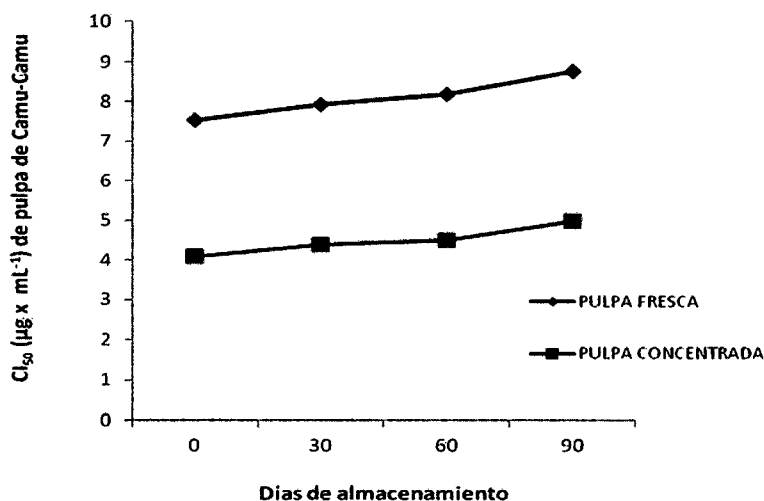
De acuerdo a los resultado se observó que en la pulpa de Camu-Camu fresca el IC<sub>50</sub> aumento en 1,16 veces, mientras que en la pulpa concentrada a vacío aumentó 1,22 veces durante el almacenamiento; lo que indica que la actividad antioxidante disminuyo durante el almacenamiento para ambos tratamientos; mencionado por HUANG *et. al.* (2 005), citado por BURNEO (2 009), que el IC<sub>50</sub> es inversamente proporcional a la actividad antioxidante, es decir, valores mayores de IC<sub>50</sub> indican una menor actividad antioxidante y viceversa. Así mismo AYMOTO *et. al* (2 005), mencionan que la actividad

antioxidante es muy susceptible a oxidaciones químicas y enzimáticas durante el procesamiento, cocinado o almacenamiento.

**Cuadro 12.** Coeficiente de inhibición ( $IC_{50}$ ) de la pulpa de Camu-Camu para el radical DPPH $^{\bullet}$ , fresca y concentrada al vacío.

Almacenamiento	Pulpa fresca	Pulpa concentrada
Días	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ )	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ )
0	$7,537 \pm 0,109^a$	$4,075 \pm 0,084^a$
30	$7,932 \pm 0,115^b$	$4,378 \pm 0,017^b$
60	$8,189 \pm 0,023^c$	$4,506 \pm 0,007^c$
90	$8,758 \pm 0,056^d$	$4,982 \pm 0,018^d$

Los resultados son los promedios de tres repeticiones seguido de la desviación estándar, valores de una misma columna con diferente superíndice difieren  $p \leq 0,05$ .



**Figura 8.** Comportamiento del coeficiente de inhibición de la pulpa de Camu-Camu para el radical DPPH $^{\bullet}$ .

Comparando las pérdidas de actividad antioxidante (13% para pulpa concentrada y 18% para pulpa fresca); MEJÍA *et. al* (2 006) mencionan que existen pérdidas del 28% en pulpa de arazá durante su almacenamiento a -20°C. Así mismo SILVEIRA (2 005), menciona que la actividad antioxidante disminuyó 42% en pulpa de acerola; 39% en caju; 49% en guayaba almacenada por 70 días a -18°C.

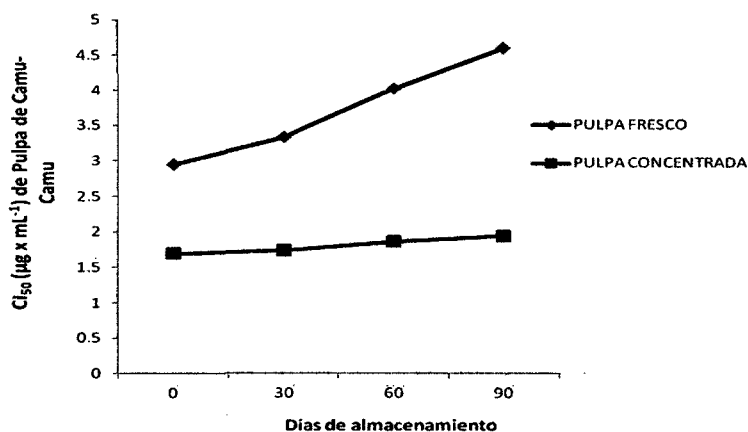
#### - Radical 2,2 Azinobis (3-Benzotiazolino-6-Ácido Sulfónico) (ABTS<sup>•+</sup>)

Los resultados de la actividad antioxidante medida por el Cation ABTS<sup>•+</sup> se muestran en el Cuadro 13 y Figura 9, para la pulpa de Camu-Camu madura fresca y concentrada al vacío, empacada al vacío y almacenada por 90 días a -20°C respectivamente; encontrándose diferencias estadísticas entre cada mes (A-XX).

**Cuadro 13.** Coeficiente de inhibición (IC<sub>50</sub>) del Cation ABTS<sup>•+</sup> para la pulpa de Camu-Camu fresca y concentrada al vacío.

Días de almacenamiento	IC <sub>50</sub> (µg x mL <sup>-1</sup> ) de pulpa fresca	IC <sub>50</sub> (µg x mL <sup>-1</sup> ) de pulpa concentrada
0	2,946 ± 0,044 <sup>a</sup>	1,692 ± 0,007 <sup>a</sup>
30	3,323 ± 0,069 <sup>b</sup>	1,733 ± 0,022 <sup>b</sup>
60	4,014 ± 0,022 <sup>c</sup>	1,858 ± 0,009 <sup>c</sup>
90	4,589 ± 0,005 <sup>d</sup>	1,934 ± 0,002 <sup>d</sup>

Los resultados son los promedios de tres repeticiones seguido de la desviación estándar, valores de una misma columna con diferente superíndice difieren  $p \leq 0,05$ .



**Figura 9.** Comportamiento del coeficiente de Inhibición de la pulpa de Camu-Camu para el Cation ABTS<sup>•+</sup>.

La actividad antioxidante mediante el catión ABTS<sup>•+</sup> muestra el mismo efecto que el radical DPPH<sup>•</sup>, encontrándose diferencia estadística significativa entre los tratamientos. La mayor capacidad antioxidante se muestra mediante el catión ABTS<sup>•+</sup> ya que con este método se puede medir la actividad de compuestos hidrófilos y lipófilos; a diferencia del DPPH<sup>•</sup> que solo puede disolverse en medio orgánico (KUSKOSKI *et. al*, 2 005; CASTAÑEDA *et. al*, 2 008; RAMOS *et. al*, 2 008; ROJAS *et. al*, 2 008).

#### 4.3.4. Cuantificación de mohos y levaduras

En el Cuadro 14, se muestran los resultados de los análisis microbiológicos de la pulpa de Camu-Camu fresca y concentrada al vacío, empacada al vacío y almacenada por 90 días a -20°C respectivamente;

existiendo diferencias estadísticas significativas para la pulpa fresca durante el primer mes, a diferencia de la pulpa concentrada donde no existen diferencias estadísticas en los meses de almacenamiento (A-XXI).

De acuerdo a los resultado obtenidos durante el almacenamiento se pierden casi en su totalidad la cantidad de mohos y levaduras tanto en estado fresco y concentrado  $3,0 \pm 2$  y  $0,0 \pm 0,0$  UFC x  $g^{-1}$  respectivamente. Este comportamiento puede deberse a lo mencionado por VEGA (2 001), que un proceso térmico se realiza para eliminar y/o inactivar microorganismos patógenos y enzimas que alteran el producto; UMAÑA (2 007); CASP y ABRIL (2 003), mencionan que en la congelación y almacenamiento se acaba con ciertos microorganismos, estos pueden morir, en todo caso se dice que se inhibe toda multiplicación microbiana.

**Cuadro 14.** Cuantificación de mohos y levaduras en la pulpa de Camu-Camu fresca y concentrada al vacío.

Días de almacenamiento	Pulpa fresca (UFC x $g^{-1}$ )	Pulpa concentrada (UFC x $g^{-1}$ )
0	$89,0 \times 10^3$ <sup>a</sup>	$1,17 \times 10^a$
30	$2,5 \times 10^b$	$6,0$ <sup>ab</sup>
60	$5,0$ <sup>b</sup>	$1,0$ <sup>bc</sup>
90	$3,0$ <sup>b</sup>	$0,0$ <sup>c</sup>

Los resultados son los promedios de tres repeticiones seguido de la desviación estándar, valores de una misma columna con diferente superíndice difieren  $p \leq 0,05$ .

La pulpa de Camu-Camu fresca y concentrada, empacadas al vacío y almacenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  por 90 días de acuerdo al cuadro tiene  $< 10 \text{ UFCxg}^{-1}$  para ambos casos, por lo mencionado por INDECOPI (2 007), establece que la pulpa de Camu-Camu debe poseer  $< 10 \text{ UFCxg}^{-1}$ , podemos mencionar que si se cumple con la Norma establecida.

## V. CONCLUSIONES

Los resultados y discusiones correspondientes nos permitieron inferir las siguientes conclusiones:

- La pulpa de Camu-Camu madura presentó el mayor contenido de ácido ascórbico y polifenoles totales, con valores de 2068,35 y 794,14 mg x 100 g<sup>-1</sup> de pulpa fresca respectivamente.
- La pulpa madura concentrada al vacío, presentó contenidos del ácido ascórbico y polifenoles totales mayores en 1,99 y 1,77 respectivamente; produciéndose una pérdida de estos componentes durante el almacenamiento de 30,16% y 20,7%, respectivamente.
- La pulpa madura de Camu-Camu presentó mayor capacidad antioxidante frente al radical DPPH<sup>•</sup> y al catión ABTS<sup>•+</sup>, con valores IC<sub>50</sub> 7,53 y 2,95 µg x mL<sup>-1</sup> y la pulpa concentrada al vacío presentó valores de 4,075 y 1,692 µg x mL<sup>-1</sup> respectivamente; con pérdidas durante su almacenamiento de 18,2% y 12,51% respectivamente.
- Al inicio del almacenamiento la pulpa madura de Camu-Camu presentó mayor carga microbiana; al término del almacenamiento ambos tratamientos alcanzaron contenidos < 10 UFCxg<sup>-1</sup>.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Se recomienda cuantificar el ácido ascórbico en su forma oxidada para realizar un seguimiento más detallado de la estabilidad de los indicadores fisicoquímicos del fruto durante su almacenamiento.
- Se recomienda utilizar tecnologías no térmicas en el proceso entre las que se encuentran los campos eléctricos de alta intensidad, irradiación, campos magnéticos oscilantes, altas presiones, entre otros.
- Se recomienda cuantificar el ácido ascórbico, polifenoles totales, actividad antioxidante utilizando las semillas del Camu-Camu.

## ABSTRACT

Not enough information on the variation of the characteristics of the pulp Camu-Camu green, ripening fruit and ripens, the fresh, frozen concentrated or stored; reason that raised the physicochemical characterization, determine the antioxidant capacity and evaluate the frozen storage, ascorbic acid, polyphenols, antioxidant capacity and quantification of molds and yeasts selected from pulp, fresh and concentrated.

We used methods of physicochemical analysis (AOAC, 1995), ascorbic acid (GOKMEN *et. al*, 2 001), total polyphenols (PRICE AND BUTLER, 1 997), quantification of molds and yeasts (ICMSF, 2 000), antioxidant capacity DPPH<sup>•</sup> and ABTS<sup>•+</sup> (BRAND-WILLIAMS *et. al*, 1 995; RE *et. al*, 1 999).

The results and discussions led to the conclusion that the pulp of ripe Camu-Camu had higher ascorbic acid and total polyphenols, with 2068.35 and 794.14 mg x 100 g<sup>-1</sup> of fresh pulp, respectively, and vacuum concentrated pulp at 1,99 and 1,77 times respectively; storage losses occurring in 30,16% and 20,7%, respectively, likewise showed higher antioxidant capacity against DPPH<sup>•</sup> radical and cation ABTS<sup>•+</sup>; with IC<sub>50</sub> values 7,53 and 2,95 mg x mL<sup>-1</sup> respectively, increasing by 1,22 and 1,14 times respectively, with storage losses of 18,2% and 12,51% respectively. At the beginning of the mature pulp storage Camu-Camu showed higher microbial load, at the end of both treatments reached storage contents <10 UFCxg<sup>-1</sup>.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

- ALVES, R. E. 1 996.** Características das frutas para exportação. En: Acerola para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita. Ministério da Agricultura. Brasília (Brasil). Publicações Técnicas FrupeX. 30p.
- ANDRADE, J.; ARAGÃO, C.; GALEAZZI, M. y FERREIRA, M. 2 005.** Changes in the concentration of total vitamin c during maturation and ripening of Camu-Camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh) fruits cultivated in the upland of Brazilian (Brasil). *Acta Horticulturae*. 1 (37): 177-180.
- AOAC. 1 995.** Official methods of analysis of the association official analytical. Chemistry. Edition 17<sup>th</sup>: Vol II. Ed Washington: 850p.
- ARNOUS, A.; MAKRIS, D.; P. FEKALAS. 2 001.** Effect of principal polyphenolics components in relation to antioxidant Characteristics of aged red wines. *J. Agric. Food. Chem.* 49(3): 5736-5742.
- AVALOS, K. SGROPPO, S., AVANZA, G. 2 001.** Actividad Antioxidante y Contenido de Fenoles Totales en Vino de Origen Nacional. [En línea]: (<http://exa.unne.edu.ar/revisfacena/19/11-19.pdf>, 20 Nov 2 009).
- AYMOTO H.; GENOVESSE M.; LAJOLO M. 2 005.** Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruits pulps. *Agric food chem.* 53, 2928-2935. Sao Paulo, Brazil. [En línea]: Nutritionhealthinfo,

([http://www.nutritionhealthinfo.com/acai/0119\\_001.pdf](http://www.nutritionhealthinfo.com/acai/0119_001.pdf), Journal, 30 Ago. 2012).

- BADERSCHNEIDER, B.; LUTHRIA, D.; WATERHOUSE, A.L.; WINTERHALTER, P. 1 999.** Anti-oxidants in white wine (cv. Riesling): I. comparison of different testing methods for antioxidant activity. *Vitis, Italy.* 38(3): 127-131.
- BRAND-WILLIAMS, W.; PRENZELER, P.; SCOLLARY, G. 1 995.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.* 28(1): 25-30.
- BRICEÑO, S; ZAMBRANO, J.; MATERANO, W.; QUINTERO, I. y VALERA, A. 2 005.** Calidad de los frutos de mango 'Bocado', madurados en la planta y fuera de la planta cosechados en madurez fisiológica. Universidad de los Andes (UCLA). Estado Trujillo, Venezuela. *Agronomía.* p. 461-473.
- BURNEO P., Z. 2 009.** Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de los extractos totales de doce especies vegetales nativas del Ecuador. Tesis de Ingeniería Química. Loja, Ecuador. Universidad Técnica Particular de Loja. p. 42-48.
- CASP V., A.; ABRIL R., J. 2 003.** Procesos de conservación de alimentos. 2º Edición. Madrid-España. Editorial Mundi-Prensa. 494p.
- CASTAÑEDA C. B.; RAMOS LL. E.; IBAÑEZ V. L. 2 008.** Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Revista Horizonte Médico.* 8(1): 56-72.
- COELHO, R.L.M.; HOLANDA, L.F.F.; MAIA, G.A.; JUNIOR, J.C.G.; FIGUEIREDO, R.W. 1 987.** Avaliação da preservação da polpa do

- tamarindo (*Tamarindis indica* L.) por alta e baixa temperatura. Revista Ciência Agronômica, Fortaleza, Brazil. 18(2): 15-22.
- COLLAZOS C. 1 993.** Composición química de alimentos de mayor consumo en el Perú. 6ª edición. Lima, Perú. MINSA. 34 p.
- CONDE, C.; SILVA, P.; FONTES, N.; DIAS, A.; TAVARES, R.; SOUSA, M.; AGASSE, A.; DELROT, S. y GERÓS, H. 2 007.** Biochemical changes throughout grape berry development and fruit and wine quality. Food. Global Science Books. 1(1): 1-22.
- DÍAZ D., M. 2 010.** Cuantificación de vitamina C, polifenoles totales y ácido ascórbico en pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) fresca y tratada térmicamente. Tesis de Ingeniería en Industrias Alimentarias. Tingo María, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 75 p.
- DREOSTI, I. 2 000.** Antioxidant Polyphenols en Tea, Cocoa, and Wine. Nutrition. United states.16(8): 692-694.
- DIBAN G., N. 2 008.** Separación de aromas en etapas del procesado de zumos de frutas y bebidas. Cantabria, España. [En línea]: Tesis, ([http://www.tdx.cesca.es/TESIS\\_UC/AVAILABLE/TDR-0716108-095222//2de7.NDGcap2.pdf](http://www.tdx.cesca.es/TESIS_UC/AVAILABLE/TDR-0716108-095222//2de7.NDGcap2.pdf), 06 Ene 2 010).
- EGAN H.; COL., 1 993.** Análisis químico de los alimentos de Pearson. Quinta reimpresión. DF. México, México. Editorial CECOSA. 606 p.
- ELEJALDE G. 2 001.** Oxidación entre la vida y la enfermedad. Anales de medicina interna. Madrid, España. 18 (1): 1-4.
- ELESBAO A., R.; CUNHA F., H.; HEBSTER M., C.; COSTA A., N.; SILVA A., A. 2 002.** Camu-Camu (*Myrciaria dubia* Mc Vaugh): A Rich Natural

Source of Vitamin C. Fruit/Frutales. Embrapa, Brazil. [En línea]: Ceinfo. ([http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/arquivos/artigo\\_1581.pdf](http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/arquivos/artigo_1581.pdf), 10 Ene 2010).

**FENNEMA, O. R. 1 993.** Química de los alimentos. 1° ed. Zaragoza, España. Editorial Acribia. 1095p.

**FERNANDEZ M.; MACHACUAY N; MENDOZA CH. 2 009.** Industrialización integral de la planta del Camu-Camu. [En línea]. (<http://www.scribd.com/doc/17660138/PROYECTO-INDUSTRIALIZACION-INTEGRAL-DE-LA-PLANTA-DE-CAMU-CAMU>; 06 May 2010).

**FLORES P, S. 1 997.** Cultivo de frutales amazónicos; Manual del extensionista. Tratado de cooperación amazónica. Lima, Perú. Editorial Mirigraf. S.R.L. 306 p.

**FRANKEL, W.; WATERHOUSE, A.; TEISSEDRE, A. 1 995.** Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. J. Agric. Food Chem. 43(1): 890-894.

**GEANKOPLIS C., J. 1 982.** Procesos de transporte y operaciones unitarias. 3° edición. DF México, México. Compañía Editorial Continental SAC. 759 p

**GÖKMEN, V.; KAHRAMAN, N.; DEMIR, N.; ACAR, J. 2 000.** Enzymatically validated liquid chromatographic method for the determination of ascorbic and dehydroascorbic acids in fruit and vegetables. Journal of Chromatography A. Ankara, Turkey. 881(2): 309–316.

- GOMES, P.M., FIGUEIRÊDO, R.M., QUEIROZ, A.J. 2 002.** Caracterização e isotermas de adsorção de umidade da polpa de acerola em pó. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais. Campina Grande, Brazil. 4(2): 157-165.
- GONZALES, A. 2007.** Frutales Nativos Amazónicos, Patrimonio alimenticio de la humanidad. Iquitos, Perú. IIAP. 21(1): 76.
- GONZALES T, M.; BETANCOURT R, M; ORTIZ M, R. 2 000.** Daño oxidativo y Antioxidantes. Bioquímica. Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa. México. 25(1): 3-9.
- GUIJA, H.; TRONCOSO, L.; GUIJA, E. 2 005.** Propiedades prooxidantes del camu camu (*Myrciaria dubia*). Universidad Mayor de san Marcos. Lima, Perú. 66(4): 261-268.
- IBARZ R.; BARBOSA C.; GARZA G.; GIMENO A. 2 000.** Métodos experimentales en la ingeniería alimentaria. 2000° ed. Zaragoza, España. Editorial Acribia S.A. 283p.
- ICMSF. 2 000.** Microorganismos de los Alimentos 1. Técnicas de Análisis microbiológico. Zaragoza, España, Acribia S.A. 1(1): 431.
- INDECOPI. 2 007.** NTP 011.031.2007. PRODUCTOS NATURALES. Pulpa de Camu Camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. Mc Vaugh). Definiciones y Requisitos. 1a Edición. 15p.
- IVERSEN C. 1 999.** Black Currant Nectar: Effect of Processing and Storage on Anthocyanins and Ascorbic Acid Content. Journal of Food Science. 64(1): 201-247.

- JACKMAN, R., YADA, R., TUNG, M.; SPEERS, R. 1 987.** Anthocyanins as Food Colorants. *Journal Food Bioch.* 11(3): 201-247.
- JEANTET R.; ROIGNANT M.; BRULÉ G. 2 005.** Ingeniería de los procesos aplicada a la industria láctea. Zaragoza, España. Editorial Acribia S.A. 183p.
- JUSTI, K.; VISENTAINER, J. ; DE SOUZA, N. y MATSUSHITA, M. 2 000.** Nutritional composition and vitamin C stability in stored Camu-Camu (*Myrciaria dubia*) pulp. *Arch. Latin. de Nutr.: Organo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición.* 50(4): 405-408.
- KUSKOSKI, E.; ASUERO, A.; TRONCOSO, A.; MANCINI, J. y FETT, R. 2005.** Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas, Brazil.* 25(4): 726-732.
- LÓPEZ A. R.; TORRES Z. T.; ANTOLIN G. G. 2 004.** Tecnología de Envasado y Conservación de Alimentos. [En línea]: Laboratorio de Procesos Químicos de CARTIF de la Universidad San Martín de Porres. ([http://www.usmp.edu.pe/publicaciones/boletin/fia/info49/articulos/Envasado%20y%20Conservacion%20de%20Alimentos%20\(1\).pdf](http://www.usmp.edu.pe/publicaciones/boletin/fia/info49/articulos/Envasado%20y%20Conservacion%20de%20Alimentos%20(1).pdf), 10 Nov 2 010).
- MAEDA, R.; PANTOJA, L.; YUYAMA, L.; CHAAR, J. 2 006.** Determinação da formulação e caracterização do néctar de Camu-Camu (*Myrciaria dubia* McVaugh). [En línea]: (<http://www.scielo.br/pdf/cta/v26n1/28851.pdf>, 15 Ene 2 011).

- MARQUEZ, M. y GALVÃO, V. 2 009.** Efeito do congelamento sobre a estabilidade da polpa de acerola adicionada de extrato comercial de própolis. *Alim. Nutri. Recife RE, Brazil.* 20(1): 87 - 94.
- MARX, F.; BURGER-RODRIGUES, R.; GORDON, A. y PAPAGIANNPOULOS, M. 2 008.** Bioactive Substances in Tropical Fruits – An Evaluation with TOSC Assay and “Activity Guided” RP-HPLC-Fractionation. University of Bonn. Germany. p. 1-4.
- MAZZA G. 2 000.** Alimentos funcionales. Aspectos bioquímicos y de procesado. Madrid, España, Acribia, S.A. 457p.
- MEJÍA, L.; NARVÁEZ, C; RESTREPO, L. 2 006.** Cambios físicos, químicos y sensoriales durante el almacenamiento congelado de la pulpa de arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh). Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 24(1): 87-95.
- MINAG. 2 009.** El Camu-Camu. [En línea]: Agro ([http://www.portalagrario.com.pe/rrnn/rrnn\\_camu.shtml](http://www.portalagrario.com.pe/rrnn/rrnn_camu.shtml), 27 Dic 2 010).
- MUÑOZ, A.; RAMOS-ESCUADERO, D.; ALVARADO-ORTIZ, C. y CASTAÑEDA, B. 2 007.** Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. *Rev. Soc. Quím. Lima, Perú.* 73(3): 141-149.
- NICOLI, M. C.; ANESE, M.; PARPINEL, M. 1 999.** Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends in Food Science Sassari, Italy.* 10(3): 94-100.

**OLIVEIRA, M.E.; BASTOS, M.S.; FEITOSA, T.; BRANCO, M.A.; SILVA, M.G.**

**1 999.** Avaliação de parâmetros de qualidade físico-químicos de polpas congeladas de acerola, cajã e caju. *Ciencia e tecnologia de Alimentos*. Campinas, Brazil.19(3): 13-22.

**PADILLA F., C.; RINCÓN A, M.; BOU-RACHED, L. 2 008.** Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. *Archivos latinoamericanos de nutrición*. [En línea]: Scielo ([www.scielo.org.ve/pdf/alan/v58n3/art14.pdf](http://www.scielo.org.ve/pdf/alan/v58n3/art14.pdf); 28 Feb 2010).

**PALADINO, S. C. 2 008.** Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (*vitis vinifera* L.). Tesis de Magister en Alimentos. Mendoza, Argentina. Universidades Nacionales de Cuyo, La Rioja, San Juan y San Luis. 100 p.

**PARK, Y.; YING, S.; KONG, S. DRZEWIWCKI, J; NAMIESNIK, J. y HARVENKIT, R. 2 006.** *In vitro* studies of polyphenols, antioxidants and other dietary indies in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *International Journal of Food Science and nutrition*. 57(1): 107-122.

**PINEDA A., D.; SALUCCI, M.; LÁZARO, R.; MAIANI, G. y FERRO-LUZZI, A. 1 999.** Capacidad antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos. *Rev. Cubana Aliment Nutr*. 13(2): 104-111.

**PINEDA, A. 2 005.** Determinación de las propiedades antioxidantes de variedades de injerto (*Pouteria viridis*) que se cultivan en tres regiones de Guatemala. Tesis de Química Bióloga. Ciudad de Guatemala, Guatemala. Universidad de San Carlos. 79 p.

- PINEDO, M.; LINARES, C.; MENDOZA, H.; ANGUIZ, R. 2 005.** Plan de mejoramiento genético del Camu-Camu. Instituto de investigaciones de la amazonia peruana (IIAP). [En línea]: (<http://www.iiap.org.pe/Publicaciones/CD/documentos/M008.pdf>, 27 Ago 2009).
- PRICE, L; BUTLER, G. 1 997.** Rapid visual estimation spectrophometric determinación of tannin content of sorghum grain. J. Agric. Food. Chem. Washington. 25(6): 1268-1273.
- PRICE, J.F.; SCHEWEIGERT B.S. 1 994.** Ciencia de la carne y de los productos cárnicos. Zaragoza, España, Acribia SAC. 581 p.
- RAMOS Z, GARCÍA L, PINEDO M. 2 002.** Evaluación de factores de procesamiento y conservación de pulpa de *Myrciaria dubia* H.B.K. (Camu-Camu) que reducen el contenido de Vitamina C (ácido ascórbico). Rev. Amazónica de Investigación Alimentaria. 2(2): 89-99.
- RAMOS LL.; CASTAÑEDA C.; IBAÑEZ V. 2 008.** Evaluación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas. Revista Acad Perú Salud. 15(1): 42-47.
- RE, R.; PELLEGRINE, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. 1 999.** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic. Biol. Med., 26(9): 1231-1237.
- REPO C, R; ENCINA Z, C. 2 008.** Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. [En línea]:

([http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/rev\\_academia/2008\\_n1/pdf/a11v15n1.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/rev_academia/2008_n1/pdf/a11v15n1.pdf); 28 Dic 2010).

- RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N.J.; BOLWELL, P.G.; BRAMLEY, P.; PRIDHAM, J.B. 1 995.** The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoides. *Free Radical research*. Washington. 22(4): 375-383.
- RIVA, R.; GONZALES, R. 1 996.** Tecnología del cultivo de camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc Vaugh) en la amazonia peruana. Ministerio de agricultura del Perú. Pucallpa, Perú. 40 p.
- RODRIGUES R. B., MENEZES H. C., CABRAL M. C., DORNIER M., REYNES M. 2 001.** An Amazonian fruit with high potential as natural source of vitamin C: The camu-camu (*Myrciaria dubia*). *Fruits*. [En línea]: ([http://www.ernaehrung-nutrition.at/cms/nutrition/attachments/8/7/8/CH0163/CMS1234174755787/rodrigues2\\_e9\\_2006.pdf](http://www.ernaehrung-nutrition.at/cms/nutrition/attachments/8/7/8/CH0163/CMS1234174755787/rodrigues2_e9_2006.pdf); 16 Dic 2 010).
- RODRIGUES R., B. 2 002.** Aplicação dos processos de separação por membranas para produção de suco de Camu Camu (*Myrciaria dubia*). UNICAMP, Campinas, Brazil. 4 p.
- RODRIGUEZ, R. y MARX, F. 2 006.** Camu Camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh]: a promising fruit from the Amazon Basin. *Ernährung-Nutrition*, 30(9): 376 - 381.
- ROJAS H. E. 1 996.** Vitaminas y acción antioxidante. Editado por Merck Darmstodt. Barcelona, España. 200 p.

- ROJAS B., D.; NARVÁEZ C., E.; RESTREPO S., L. 2 008.** Evaluación del contenido de vitamina c, fenoles totales y actividad antioxidante en pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) de las variedades pera, regional roja y regional blanca. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. p. 49-60.
- SALVADOR, F. 1 997.** Cultivo de Frutales Nativos Amazónicos. Manual para el Extensionista. Tratado de Cooperación Amazónica. Secretaria Pro-Tempore. Lima, Perú. 367 p.
- SERRA, E.; TRIBO, M. 1 991.** Antioxidantes. Nutrición Clínica. Escuela de Nutrición. Universidad de Granada Actualidad Dermatológica. Granada, España. 11(3): 21-26.
- SHARMA S., K.; MULVANEY S., J.; RIZVI S., S.H. 2 003.** Ingeniería de alimentos. Operaciones unitarias y prácticas de laboratorio. México. Editorial Limusa S.A. 348p.
- SIES H. 1 997.** Antioxidants in disease mechanisms and therapy. Academic. Press. Inc. United estates. 38: 293 p.
- SILVA, C. T.; ANDRADE, J. S. 1 996.** Postharvest modifications in camu-camu fruits (*Myrciaria dubia* McVaugh) in response to the stage of maturation and modified atmosphere. Proc. Interamer. Soc. Trop. Hort. 40(5): 90-92.
- SILVEIRA, M. R., 2 005.** Cinética da degradação do ácido ascórbico em polpas de frutas congeladas in natura. Dissertação (Mestrado em em Nutrição). Universidade Federal de Pernambuco. Recife, Brazil. 90 p.
- SING DE UGAZ, O. 1 997.** Colorantes naturales. Pontificia Universidad Católica del Perú. Impreso en Perú. 216 p.

- SINGH R. P.; HELDMAN D. R. 1 998.** Introducción a la ingeniería de los alimentos. [En línea]: Congelación de alimentos. ([http://www.mundodescargas.com/apuntes-trabajos/quimica\\_t/decargar\\_congelacion-de-alimentos.pdf](http://www.mundodescargas.com/apuntes-trabajos/quimica_t/decargar_congelacion-de-alimentos.pdf); 11 Dic 2 010).
- SULLÓN V, J. 2 009.** Evaluación de la actividad antioxidante del Noni (*Morinda citrifolia L.*) en tres estados de madurez en Tingo María. Tesis Ingeniera en Industrias Alimentaria. Tingo María, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 62-63 p.
- THOMAS, J. A. 1 994.** Oxidative stress, oxidant defense and dietary constituents. En: Shils ME, Olson JA, Shike M(eds). Modern nutrition in health and diseases Philadelphia. Editorial Lea & Febiger. 18(6): 112-114p.
- THURHAM, J.T. 1 990.** Antioxidant vitamins and cancer prevention. Journal Micronutr. 7(2): 279 - 299.
- UGARTONDO C., V. 2 009.** Caracterización de los derivados polifenólicos obtenidos fuentes naturales. [En línea]: ([www.tesisenxarxa.net/TESIS\\_UB/.../01.VUC\\_INTRODUCCI%3N.pdf](http://www.tesisenxarxa.net/TESIS_UB/.../01.VUC_INTRODUCCI%3N.pdf), 15 Dic 2 010).
- UMAÑA C.; E. 2 007.** Conservación de alimentos por frío: Refrigeración/ Congelamiento. FIAGRO. Fundación para la Innovación Tecnológica Agropecuaria. 82 p.
- VÁSQUEZ M, F. 2 000.** El camu camu. Iquitos, Perú, Universal. p. 87 - 90.
- VEGA R. 2 001.** Tecnologías de valor agregado de Camu-Camu en Ucayali. Expediente técnico 2 001. Pucallpa, Perú. 64 p.

- VILA L., R. 2 006.** Caracterización físico-química del membrillo Japonés (*chaenomeles sp. Lindl.*). Desarrollo fisiológico y conservación frigorífica. Universidad de Murcia. [En línea]: ([http://www.tesisenxarxa.net/TDX/TDR\\_UM/TESIS/AVAILABLE/TDR-0302107-113535//vilalopez.pdf](http://www.tesisenxarxa.net/TDX/TDR_UM/TESIS/AVAILABLE/TDR-0302107-113535//vilalopez.pdf), 15 Ene 2 011).
- VILLACHICA, L. 1996.** Frutales y Hortalizas Promisorios de la Amazonía. Tratado de Cooperación Amazónica. Secretaria Pro-Tempore. Lima, Perú. 367 p.
- VILLACHICA, H.; LAZARTE, J.; CLAVO, M.; LESCANO, C.; ARROYO, M.; DÍAZ, I. 1 998.** Productos amazónicos del Perú: Palmito, camu-camu y uña de gato. Pucallpa. Perú. Editorial CODESU-CIID. 144 p.
- VILLANUEVA T., J. 2 003.** Antocianinas, Acido Ascórbico, Polifenoles Totales y Actividad Antioxidante en la Cáscara de Camu-Camu (*Myrciaria dubia* Mc Vaugh H.B.K.). Tesis de Ingeniería en Industrias Alimentaria. Tingo María, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 47 p.
- WEISBURGER J.H. 1 999.** Mechanism of action of antioxidants as exemplified in vegetables, tomatoes, and tea. *Food Chem. Toxicol*, 37(3): 943 - 948.
- YAMAGUCHI, F.; YOSHIMURA, Y.; NAKAZAWA, H.; ARIGA, T. 1 999.** Free radical scav-enging activity of grape seed extract and antioxidants by Electron Spin resonance spectrometry in an H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/ NaOH/DMSO System. *J. Agric. Food Chem.* 47(7): 2544 - 2548.
- YAMASHITA, F.; BENASSI, M. T.; TONZAR, A. C.; MORIYA, S.; FERNANDES, J. G. 2 003.** Produtos de acerola: Estudos da estabilidade de vitamina C. *Ciência e Tecnologia Alimentos.* 23(1): 92 - 94.

**ZAPATA, S.; DUFOUR, J. 1 993.** Camu Camu (*Myrciaria dubia* Mc Vaugh)

Chemical Composition of Fruit. J. Agric. Food Chem. 61(3): 349 - 351.

## **ANEXOS**

**A – I. Fruta de Camu-Camu (*Myrciaria dubia* Mc Vaugh H.B.K.)**



**A – II. Análisis de varianza para el Análisis de Humedad en la pulpa de Camu-Camu en 3 estados de madurez (n=3, p<0,05).**

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Sig.
Tratamientos	2	12,361	6,180	29,526	0,01
Error experimental	6	1,256	0,209	-----	-----
Total	8	13,617	-----	-----	-----
R <sup>2</sup> = 0,907    CV = 0,01425    MSE = 0,4348    Media = 91,56444					

**A – III. Análisis de varianza para el Análisis de Proteína en la pulpa de Camu-Camu en 3 estados de madurez (n=3, p<0,05).**

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Sig.
Tratamientos	2	0,012	0,06	9,017	0,016
Error experimental	6	0,004	0,01	-----	-----
Total	8	0,015	-----	-----	-----
R <sup>2</sup> = 0,727    CV = 0,0938    MSE = 0,01467    Media = 0,46889					

**A – IV. Análisis de varianza para el Análisis de Grasa en la pulpa de Camu-Camu en 3 estados de madurez (n=3, p<0,05).**

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cál.	Sig.
Tratamientos	2	0,007	0,03	28,091	0,001
Error experimental	6	0,001	0,00	-----	-----
Total	8	0,008	-----	-----	-----

$R^2 = 0,877$      $CV = 0,1567$      $MSE = 0,0127$      $Media = 0,19667$

**A – V. Análisis de varianza para el Análisis de Fibra en la pulpa de Camu-Camu en 3 estados de madurez (n=3, p<0,05).**

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cál.	Sig.
Tratamientos	2	0,007	0,03	28,091	0,001
Error experimental	6	0,001	0,00	-----	-----
Total	8	0,008	-----	-----	-----

$R^2 = 0,885$      $CV = 0,44854$      $MSE = 0,00972$      $Media = 0,650$

**A – VI. Análisis de varianza para el Análisis de Ceniza en la pulpa de Camu-Camu en 3 estados de madurez (n=3, p<0,05).**

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cál.	Sig.
Tratamientos	2	0,006	0,03	23,545	0,001
Error experimental	6	0,001	0,00	-----	-----
Total	8	0,006	-----	-----	-----

$R^2 = 0,832$      $CV = 0,13123$      $MSE = 0,00949$      $Media = 0,1889$

**A – VII. Análisis de varianza para los Sólidos Solubles (°Bx) en la pulpa de Camu-Camu en 3 estados de madurez (n=3, p<0,05).**

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Sig.
Tratamientos	2	5,953	2,977	714,419	0,000
Error experimental	6	0,025	0,004	-----	-----
Total	8	5,978	-----	-----	-----

$R^2 = 0,994$      $CV = 0,14876$      $MSE = 0,28816$      $Media = 5,8111$

**A – VIII. Análisis de varianza para % Acidez en la pulpa de Camu-Camu en 3 estados de madurez (n=3, p<0,05).**

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Sig.
Tratamientos	2	0,073	0,036	47,362	0,000
Error experimental	6	0,005	0,001	-----	-----
Total	8	0,077	-----	-----	-----

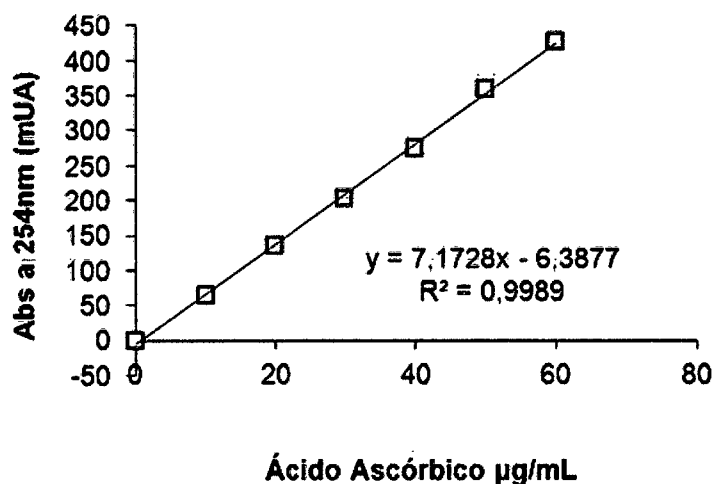
$R^2 = 0,940$      $CV = 0,0405$      $MSE = 0,03275$      $Media = 2,4244$

**A – IX. Análisis de varianza para el Índice de Madurez en la pulpa de Camu-Camu en 3 estados de madurez (n=3, p<0,05).**

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Sig.
Tratamientos	2	1,212	0,606	23,090	0,002
Error experimental	6	0,158	0,026	-----	-----
Total	8	1,370	-----	-----	-----

$R^2 = 0,854$      $CV = 5,961$      $MSE = 0,1379$      $Media = 2,4667$

**A – X. Curva patrón para la cuantificación de ácido ascórbico.**

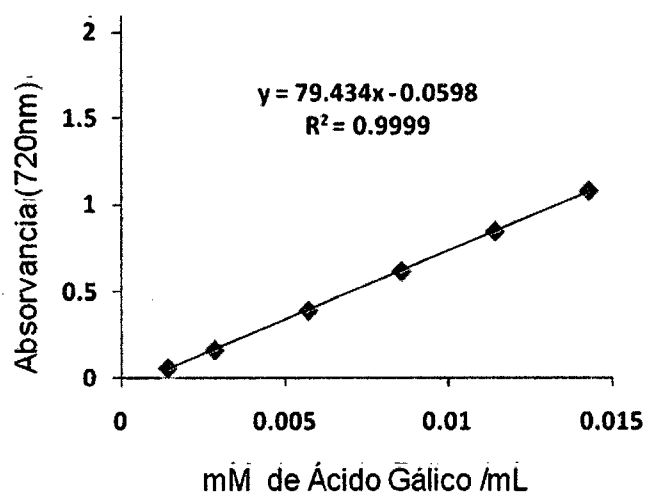


**A – XI. Análisis de varianza para el contenido de Ácido Ascórbico para la pulpa de Camu-Camu en 3 estados de madurez (n=3, p<0,05).**

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Sig.
Tratamientos	2	210626,248	105313,124	40,318	0,000
Error experimental	6	15672,373	2612,062	-----	-----
Total	8	226296,622	-----	-----	-----

$R^2 = 0,962$      $CV = 11,1366$      $MSE = 56,06278$      $Media = 1873,0541$

**A – XII. Curva patrón para la cuantificación de polifenoles totales.**



**A – XIII. Análisis de varianza para el contenido de Polifenoles totales para la pulpa de Camu-Camu en 3 estados de madurez (n=3, p<0,05).**

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Sig.
Tratamientos	2	6,733	3,367	4055,014	0,000
Error experimental	6	0,005	0,001	-----	-----
Total	8	6,738	-----	-----	-----

$R^2 = 0,815$      $CV = 7,326$      $MSE = 0,30591$      $Media = 6,7236$

**A – XIV. Análisis de varianza del IC<sub>50</sub> por el método del Radical DPPH' en la pulpa de Camu-Camu en tres estados de madurez (n=3, p<0,05).**

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Sig.
Tratamientos	2	13,603	6,801	375,419	0,000
Error experimental	6	0,109	0,018	-----	-----
Total	8	13,712	-----	-----	-----

$R^2 = 0,956$      $CV = 7,326$      $MSE = 0,1433$      $Media = 9,1334$

**A – XV. Análisis de varianza del IC<sub>50</sub> por el método del Cati3n ABTS<sup>+</sup> en la pulpa de Camu-Camu en tres estados de madurez (n=3, p<0,05).**

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Sig.
Tratamientos	2	1,688	0,844	561,540	0,000
Error experimental	6	0,009	0,002	-----	-----
Total	8	1,697	-----	-----	-----

$R^2 = 0,990$      $CV = 0,1312$      $MSE = 0,15352$      $Media = 3,5091$

**A – XVI. Análisis de varianza para la cuantificación de mohos y levaduras en la pulpa de Camu-Camu en 3 estados de madurez (n=3, p<0,05).**

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Sig.
Tratamientos	2	9800,00	4900,00	358,537	0,000
Error experimental	6	82,00	13,667	-----	-----
Total	8	9882,00	-----	-----	-----

$R^2 = 0,616$      $CV = 0,7696$      $MSE = 11,71537$      $Media = 45,6667$

**A – XVII. Análisis de varianza para el Ácido Ascórbico en la pulpa de Camu-Camu fresco empacado al vacío y almacenado por 90 días a una temperatura de - 20°C. (n=3, p<0,05).**

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Sig.
Tratamientos	3	749410,228	249803,409	0,864	0,498
Error experimental	8	2311867,529	288983,441	-----	-----
Total	11	3061277,758	-----	-----	-----

$R^2 = 0,953$      $CV = 0,3443$      $MSE = 152,2875$      $Media = 1532,1984$

**A – XVIII. Análisis de varianza para el Ácido Ascórbico en la pulpa de Camu-Camu concentrado, empacado al vacío y almacenado por 90 días a una temperatura de - 20°C. (n=3, p<0,05).**

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Sig.
Tratamientos	3	200404,817	66801,606	47,466	0,000
Error experimental	8	11258,845	1407,356	-----	-----
Total	11	211663,662	-----	-----	-----

$R^2 = 0,917$      $CV = 1,37873$      $MSE = 400,4388$      $Media = 1006,11246$

**A – XVIII. Análisis de varianza para el contenido de Polifenoles totales en la pulpa de Camu-Camu fresco empacado al vacío y almacenado por 90 días a una temperatura de - 20°C. (n=3, p<0,05).**

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Sig.
Tratamientos	3	2,193	0,731	204,193	0,000
Error experimental	8	0,029	0,004	-----	-----
Total	11	2,221	-----	-----	-----

$R^2 = 0,943$      $CV = 0,06167$      $MSE = 0,1297$      $Media = 7,2865$

**A – XVIIIa. Análisis de varianza para el contenido de Polifenoles totales en la pulpa de Camu-Camu concentrado, empacado al vacío y almacenado por 90 días a una temperatura de - 20°C. (n=3, p<0,05).**

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Sig.
Tratamientos	3	12,792	4,264	1118,165	0,000
Error experimental	8	0,031	0,004	-----	-----
Total	11	12,822	-----	-----	-----

$R^2 = 0,898$      $CV = 0,08769$      $MSE = 0,31167$      $Media = 12,35742$

**A – XIX. Análisis de varianza del IC<sub>50</sub> por el método del Radical DPPH' en la pulpa de Camu-Camu fresco empacado al vacío y almacenado por 90 días a una temperatura de - 20°C. (n=3, p<0,05).**

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Sig.
Tratamientos	3	2,360	0,787	110,162	0,000
Error experimental	8	0,057	0,007	-----	-----
Total	11	2,471	-----	-----	-----

$R^2 = 0,977$      $CV = 0,05784$      $MSE = 0,13531$      $Media = 8,1037$

**A – XIXa. Análisis de varianza del IC<sub>50</sub> por el método del Radical DPPH' en la pulpa de Camu-Camu concentrado, empacado al vacío y almacenado por 90 días a una temperatura de - 20°C. (n=3, p<0,05).**

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Sig.
Tratamientos	3	1,283	0,428	220,474	0,000
Error experimental	8	0,016	0,002	-----	-----
Total	11	1,294	-----	-----	-----

R<sup>2</sup> = 0,939    CV = 0,07661    MSE = 0,99193    Media = 4,48508

**A – XX. Análisis de varianza del IC<sub>50</sub> por el método del Cation ABTS<sup>++</sup> en la pulpa de Camu-Camu fresco empacado al vacío y almacenado por 90 días a una temperatura de - 20°C. (n=3, p<0,05).**

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Sig.
Tratamientos	3	4,795	1,598	887,066	0,000
Error experimental	8	0,014	0,002	-----	-----
Total	11	4,810	-----	-----	-----

R<sup>2</sup> = 0,985    CV = 0,17785    MSE = 0,19089    Media = 3,7180

**A – XXa. Análisis de varianza del IC<sub>50</sub> por el método del Cation ABTS<sup>++</sup> en la pulpa de Camu-Camu concentrado, empacado al vacío y almacenado por 90 días a una temperatura de - 20°C. (n=3, p<0,05).**

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Sig.
Tratamientos	3	0,113	0,030	246,819	0,000
Error experimental	8	0,001	0,000	-----	-----
Total	11	0,114	-----	-----	-----

R<sup>2</sup> = 0,958    CV = 0,05638    MSE = 0,29367    Media = 1,80424

**A – XXI. Análisis de varianza para la cuantificación de mohos y levaduras de la pulpa de Camu-Camu fresco, empacado al vacío y almacenado por 90 días a una temperatura de - 20°C. (n=3, p<0,05).**

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Sig.
Tratamientos	3	4,795	1,598	887,066	0,000
Error experimental	8	0,014	0,002	-----	-----
Total	11	4,810	-----	-----	-----
R <sup>2</sup> = 0,985    CV = 0,17785    MSE = 0,19089    Media = 3,7180					

**A – XXIa. Análisis de varianza para la cuantificación de mohos y levaduras de la pulpa de Camu-Camu concentrado, empacado al vacío y almacenado por 90 días a una temperatura de - 20°C. (n=3, p<0,05).**

F.V	G.L	S.C	C.M	F. cal.	Sig.
Tratamientos	3	447,00	149,00	26,198	0,000
Error experimental	8	45,50	5,688	-----	-----
Total	11	492,50	-----	-----	-----
R <sup>2</sup> = 0,803    CV = 1,4869    MSE = 1,93160    Media = 4,500					