

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS



**“Evaluación del Efecto del Ají Panca (*Capsicum chinense*) sobre
Escherichia coli y *Staphylococcus aureus* en Chorizos Frescos”**

Presentado por:

ANA ALEJANDRA GUTIÉRREZ ORTIZ

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

Lima – Perú

2014



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA
FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**



“Evaluación del Efecto del Ají Panca (*Capsicum chinense*) sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en Chorizos Frescos”

Presentado por:

ANA ALEJANDRA GUTIÉRREZ ORTIZ

**TESIS PARA OPTAR EL TITULO DE
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

SUSTENTADA Y APROBADA ANTE EL SIGUIENTE JURADO:

Mg. Sc. Carlos Elias Peñafiel
PRESIDENTE

Dra. Patricia Glorio Paulet
MIEMBRO

Mg. Sc. Christian Encina Zelada
MIEMBRO

Dra. Bettit Salvá Ruiz
ASESORA

Dr. Marcial Ibo Silva Jaimes
CO ASESOR

*A Dios que me bendice
cada día.*

*A Alejandro y Marcos.
que son mi motivación y
fortaleza.*

*A mis padres Edith y Tomas
que siempre confían en mí y
apoyan en todo.*

*A Claudia por
comprenderme y a Juan
Manuel por soñar conmigo.*

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer en las siguientes líneas a todas aquellas personas que con su ayuda han colaborado en la realización del presente trabajo:

En primera instancia al Vicerrectorado Académico y a la Oficina de Investigación de la Universidad Nacional Agraria La Molina por el apoyo financiero de la investigación.

A la Universidad Nacional Agraria La Molina y docentes de la Facultad de Industrias Alimentarias, por la invaluable contribución en mi formación profesional.

A Marcos Infantes García, mi esposo y compañero, por darme consejos y apoyarme incondicionalmente durante toda la tesis.

A mis padres y hermana, sin ellos no habría sido capaz de llevar a cabo esta tesis.

A los Sres. Marcos Infantes y Elvia García por su apoyo incondicional durante la culminación de esta investigación.

Un especial agradecimiento se merecen mis asesores Bettit Salvá Ruiz y Marcial Silva Jaimes por sus sabias contribuciones y apoyo en la redacción científica, gran calidad humana y por su confianza puesta en mí persona.

También me gustaría agradecer a la Biol. Mafalda Alva, de La Molina Calidad Total y la Mg.Sc. Karla Peña, Especialista en ajíes peruanos del Instituto Nacional de Investigación Agraria, por su colaboración en el desarrollo experimental y suministro de datos para la realización de la tesis. Así también a los Ing. Johnny Vargas y Jorge Condori, del Instituto Peruano de Energía Nuclear, por su apoyo y guía durante el proceso de irradiación.

A las técnicas de laboratorio Karelía Navarro, Ana Julia Mantilla, Zahara Prudencio, Máximo Zúñiga y Juan Maihuire.

A cada una de las personas que contribuyeron de una u otra forma, mi agradecimiento infinito.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	11
II.	REVISION DE LITERATURA	12
2.1	AJÍ PANCA	12
2.1.1.	GENERALIDADES	12
2.1.2.	USOS Y PROPIEDADES FITOQUÍMICAS	16
2.1.3.	CAPSAISINAS Y CAPSAICINOIDES.....	18
2.1.4.	PRODUCCIÓN NACIONAL DE AJÍ	22
2.1.5.	SITUACION COMERCIAL DEL AJÍ PANCA.....	23
2.1.6.	CADENA PRODUCTIVA DEL AJÍ.....	24
2.2.	CHORIZO FRESCO	24
2.2.1	DEFINICIÓN	24
2.2.2	COMPOSICIÓN.....	25
2.2.3	LAS ESPECIAS COMO AGENTES ANTIMICROBIANOS EN PRODUCTOS CARNICOS.....	25
2.2.4	REQUERIMIENTO MICROBIOLÓGICOS	27
2.2.5.	FACTORES DE ALTERACIÓN MICROBIANA EN LOS ALIMENTOS	28
2.2.6.	DETERIORO MICROBIOLÓGICO DE LOS EMBUTIDOS	29
2.2.7.	FUENTES DE CONTAMINACIÓN DEL CHORIZO FRESCO	30
2.2.8.	MICROORGANISMOS EN LAS CARNES CRUDAS PICADAS.....	31
2.3.	PRUEBAS DE SUCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA.....	34
2.3.1.	CONCENTRACIÓN MINJMA INHIBITORIA Y CONCENTRACION MINIMA BACTERICIDA	35
2.3.1.	MÉTODO DE DIFUSIÓN POR DISCOS, DE KIRBY-BAUER.....	36
2.3.2.	MÉTODO DE DILUCION EN CALDO Y AGAR	36
2.3.3.	OTRAS METODOLOGÍAS PARA LA DETERMINACIÓN SUSCEPTIBILIDAD MICROBIANA	39
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	41
3.1	LUGAR DE REALIZACIÓN.....	41
3.2	MATERIA PRIMA E INSUMOS	41
3.3	CEPAS MICROBIANAS DE ESTUDIO.....	42
3.4	REACTIVOS	42
3.5	EQUIPOS Y MATERIALES.....	43

3.3.1	EQUIPOS	43
3.3.2	MATERIALES	44
3.6	MÉTODOS DE ANÁLISIS	45
3.6.1.	ANÁLISIS FÍSICOS	45
3.6.2.	ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS	46
3.6.3.	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS.....	47
3.7	METODOLOGIA EXPERIMENTAL	50
3.7.1.	CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA <i>IN VITRO</i> DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE AJÍ PANCA	50
3.7.2.	EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL AJÍ PANCA EN POLVO DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE CHORIZO FRESCO	53
3.8.	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	56
3.9.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	58
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	59
4.1.	CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA <i>IN VITRO</i> DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE AJÍ PANCA	59
4.1.1.	COMPOSICION DEL AJÍ PANCA FRESCO Y SECO	59
4.1.2.	CARACTERIZACION MICROBIOLÓGICA DEL AJÍ PANCA SECO	61
4.1.3.	GRANULOMETRIA DEL POLVO DE AJÍ PANCA.....	63
4.1.4.	CONTENIDO DE CAPSAICINOIDES MAYORITARIOS DEL AJÍ PANCA EN POLVO.....	64
4.1.5.	RENDIMIENTO DE EXTRACTO ETANÓLICO A PARTIR DE AJÍ PANCA EN POLVO.....	65
4.1.6.	CONTENIDO DE CAPSAICINOIDES MAYORITARIOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE AJÍ PANCA	66
4.1.7.	CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA <i>IN VITRO</i>	67
4.2.	EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL AJÍ PANCA EN POLVO DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE CHORIZO.....	72
4.2.1.	COMPOSICION PROXIMAL DEL CHORIZO FRESCO	72
4.2.2.	CARGA MICROBIANA DEL CHORIZO FRESCO.....	74
4.2.3.	EFFECTO DEL AJÍ PANCA SOBRE LAS CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DEL CHORIZO IRRADIADO A 10 KGRAY	75
4.2.4.	EFFECTO DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE CHORIZO FRESCO INOCULADO CON <i>E. COLI</i>	76

4.2.5. EFECTO DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE CHORIZO FRESCO INOCULADO CON <i>S. AUREUS</i>	82
V. CONCLUSIONES	87
VI. RECOMENDACIONES.....	88
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	89
VIII. ANEXOS	100

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N°		Pág.
1	Composición proximal del ají Panca seco	15
2	Scoville “Heat” Units (SHU) para variedades de pimientos	22
3	Composición del Chorizo	26
4	Composición Química del Chorizo Fresco	26
5	Ácidos Grasos Presentes en el Chorizo Fresco	27
6	Prueba de susceptibilidad por difusión por discos Guía para la Resolución de problemas	37
7	Formulación del Chorizo fresco base	55
8	Diseño experimental de la Investigación	57
9	Composición proximal del ají Panca fresco	59
10	Composición proximal del ají Panca en polvo	60
11	Recuento microbiológico (Log_{10} ufc/g) del ají Panca en polvo	62
12	Granulometría del ají Panca en polvo	63
13	Contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina en el ají Panca en polvo	64
14	Rendimiento de extracto etanólico de ají Panca	65
15	Contenido de Capsaicina y Dihidrocapsaicina en el extracto etanólico de ají Panca	66
16	Concentración mínima inhibitoria del ají Panca sobre <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>	72
17	Componentes mayoritarios del chorizo fresco	72
18	Recuento microbiológico (Log_{10} ufc/g) del chorizo fresco	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°		Pág.
1	Anatomía del ají	14
2	Estructuras químicas de los capsaicinoides	20
3	Producción agropecuaria, periodo 2000 – 2012	23
4	Flujo de operaciones para la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria por microdilución	52
5	Diagrama de flujo de la inoculación de chorizo experimental con ají Panca	54
6	Diagrama de Pareto de la granulometría del ají Panca en polvo	63
7	Concentración Mínima Inhibitoria <i>In vitro</i> del Extracto Etanólico de Ají Panca sobre <i>Escherichia coli</i>	69
8	Concentración Mínima Inhibitoria <i>In vitro</i> del Extracto Etanólico de Ají Panca sobre <i>Staphylococcus aureus</i>	71
9	Efecto sobre el recuento microbiológico del chorizo inoculado con <i>Escherichia coli</i> (Log ₁₀ ufc/g)	77
10	Efecto sobre el pH durante el almacenamiento del chorizo inoculado con <i>Escherichia coli</i>	79
11	Efecto sobre la %Humedad durante el almacenamiento del chorizo inoculado con <i>Escherichia coli</i>	80
12	Efecto sobre la actividad de agua durante el almacenamiento del chorizo inoculado con <i>Escherichia coli</i>	81
13	Efecto sobre el recuento microbiológico del chorizo inoculado con <i>Staphylococcus aureus</i> (Log ₁₀ ufc/g)	83
14	Efecto sobre el pH durante el almacenamiento del chorizo inoculado con <i>Staphylococcus aureus</i>	84

15	Efecto sobre la %Humedad durante el almacenamiento del chorizo inoculado con <i>Staphylococcus aureus</i>	85
16	Efecto sobre la actividad de agua durante el almacenamiento del chorizo inoculado con <i>Staphylococcus aureus</i>	86

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo		Pág.
Nº		
1	Efecto microbiológico del chorizo Sin Inóculo (Log ₁₀ ufc/g)	101
2	Efecto sobre el pH del chorizo Sin Inóculo	103
3	Efecto sobre la actividad de agua del chorizo Sin Inóculo	107
4	Efecto sobre el %Humedad del chorizo Sin Inóculo	111
5	Efecto microbiológico del chorizo inoculado con <i>Escherichia coli</i> (Log ₁₀ ufc/g)	114
6	Efecto sobre el pH del chorizo inoculado con <i>Escherichia coli</i>	119
7	Efecto sobre la actividad de agua del chorizo inoculado con <i>Escherichia coli</i>	123
8	Efecto sobre la %Humedad del chorizo inoculado con <i>Escherichia coli</i>	128
9	Efecto microbiológico del chorizo inoculado con <i>Staphylococcus aureus</i> Log ₁₀ ufc/g)	132
10	Efecto sobre el pH del chorizo inoculado con <i>Staphylococcus aureus</i>	137
11	Efecto sobre la actividad de agua del chorizo inoculado con <i>Staphylococcus aureus</i>	141
12	Efecto sobre el %Humedad del chorizo inoculado con <i>Staphylococcus aureus</i>	145
13	Crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> en la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria	149
14	Crecimiento de <i>Escherichia coli</i> en la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria	153
15	Cálculo de la cantidad de aji Panca en polvo en el chorizo experimental	157
16	Intervalos de Confianza para la Curva de CMI	158
17	Ficha técnica de la cepas de <i>Escherichia coli</i> (Laboratorio de Microbiología de La Molina Calidad Total)	159

18	Ficha técnica de la cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> (Laboratorio de Microbiología de La Molina Calidad Total)	160
19	Ficha técnica del Caldo Mueller-Hinton	161
20	Cromatograma HPLC de oleoresina de Ají Panca	163
21	Cromatograma HPLC de Ají Panca en polvo	164
22	Curvas de Calibración de Capsaicina	165
23	Curva de Calibración de Dihidrocapsaicina	165

RESUMEN

El ají es uno de los condimentos más representativos de la cultura peruana. En la actualidad, diversos *Capsicum*, entre ellos el ají Panca, son utilizados en un sin fin de potajes y también en la industria cárnica. Es así como el ají Panca ha sido ampliamente utilizado en la comida tradicional, otorgando el sabor que la caracteriza. Siendo en las costumbres del norte del Perú que se ha encontrado con más auge su aplicación en los productos cárnicos como la salchicha, el chorizo y el relleno (Mateo *et al.*, 2009).

Pistivsek (2005) afirma que la mayoría de los frutos de este género presentan actividad antimicrobiana contra *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, siendo el principal compuesto relacionado a dicha actividad la capsaicina, cuyo efecto se basa en la fluidez de la membrana, inhibiendo el transporte en la cadena de electrones. Así también se ha comprobado que el extracto etanólico de los *Capsicum* permiten un mayor grado de inhibición en *Escherichia coli* y *Bacillus sp.* (Colivet *et al.*, 2006).

En la presente investigación, primero se evaluó la concentración mínima inhibitoria (CMI) por microdilución a distintas concentraciones de extracto etanólico de ají Panca (0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5 y 4 mg/ml de solución) en dos cepas indicadoras *E. coli* ATCC®25922™ y *S. aureus* ATCC®25923™. Posteriormente, se aplicó la CMI hallada 0, 0.5, 1 y 2 veces su valor en ají Panca en polvo dentro de un chorizo experimental para poder observar el efecto inhibitorio sobre cada cepa. Los resultados indican que el CMI fue de 5.6 mg de extracto/ml de solución; y que dos veces la CMI presenta una disminución de hasta 2.6 logaritmos sobre la carga microbiana de *S. aureus* y 2.2 log sobre *E. coli*. Por lo tanto, se concluyó que el ají Panca presenta efecto antimicrobiano sobre *E. coli* y *S. aureus*, siendo capaz de inhibir y reducir el crecimiento microbiano *in vitro* y a altas concentraciones en matrices alimentarias.

Palabras Claves: *Capsicum chinense*; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*; efecto antimicrobiano, CMI; chorizo.

ABSTRACT

The chili is one of the most representative Peruvian culture condiments. At present various *Capsicum*, including Panca chili, are used in many dishes and also in meat industry. Thus, Panca chili has been widely used in traditional food, giving its characteristic flavor. But is in the customs of northern Peru that most booming application in meat products has been found such as sausages (Mateo *et al.*, 2009).

Pistivsek (2005) states that most of the fruits of this genus exhibit antimicrobial activity against *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, being the main compound related to this activity the capsaicin, which effect is based in inhibiting the fluidity of membrane and the electron chain conveyor. Colivet *et al.* (2006) have found that the ethanolic extract of *Capsicum* allow a greater degree of inhibition on *Escherichia coli* and *Bacillus* sp.

In the following research, the minimum inhibitory concentration (MIC) was tested by microdilution at different concentrations of ethanolic extract of Panca chili (0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5 and 4 mg/ml) in two indicator strains *E. coli* ATCC®25922™ and *S. aureus* ATCC®25923™. Subsequently, we applied the CMI found at 0, 0.5, 1 and 2 times its value in Panca chili powder in an experimental sausage to observe the inhibitory effect on each strain, separately. The results indicate that the MIC was 5.6 mg of extract/ml of solution and that two times the MIC, it exhibits a decreased of 2.6 logarithms on *S. aureus* and 2.2 log on *E. coli*. In conclusion Panca chili exhibits an antimicrobial effect over *E. coli* and *S. aureus*, being able to inhibit and reduce the microbiological growth *in vitro* and in food systems, as sausage, at high concentrations.

Key words: *Capsicum chinense*; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*; antibacterial effect; sausage, MIC.

I. INTRODUCCIÓN

El Perú cuenta con una gran variedad de ajíes entre los cuales uno de los más populares es el ají Panca. El uso de este producto se limita básicamente como condimento o colorante. Sin embargo, los *Capsicum* presentan diversas propiedades fitoquímicas: antimicrobianas, antioxidantes, medicinales entre otras.

Actualmente, una de las tendencias en la industria alimentaria es encontrar sustitutos naturales para los conservantes sintéticos. Por lo que es importante atribuirle un nuevo uso a los *Capsicum*, los cuales pueden ser capaces de inhibir el crecimiento microbiano.

La mayoría de los frutos de este género presentan actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* (Pistivsek, 2005) que es una bacteria Gram positiva e indicadora de inocuidad alimentaria. Así también se ha comprobado que pueden inhibir el crecimiento de *Escherichia coli* (Colivet *et al.*, 2006) el cual es una bacteria Gram negativa y un indicador de contaminación fecal reciente. El principal compuesto relacionado a esta actividad es la capsaicina (Pistivsek, 2005), seguido por los compuestos fenólicos y flavonoides, que también se encuentran presentes en los *Capsicum* y tienen un efecto antimicrobiano.

La evaluación de la actividad antimicrobiana se realiza por medio de pruebas de susceptibilidad como la concentración mínima inhibitoria (CMI), esta nos permite saber cuál es la concentración a la cual un compuesto es capaz de inhibir el crecimiento de un microorganismo específico. En la presente investigación, se aplicó el método por microdilución (NCCLS, 2006), para poder encontrar la CMI del ají Panca *in vitro*.

Con respecto a los usos del ají Panca, este es aplicado en algunas zonas del Perú, en productos cárnicos como el chorizo. Sin embargo, este uso se limita a condimentar este tipo de alimentos. Por lo cual, buscamos también encontrar el efecto antimicrobiano del ají Panca sobre *E. coli* y *S. aureus* inoculados en chorizo fresco, para así evaluar el recuento de estas cepas durante su almacenamiento.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 AJÍ PANCA

2.1.1. GENERALIDADES

Los ajíes pertenecen al género *Capsicum* y la familia *Solanaceae*. A nivel mundial son cinco las especies más cultivadas, *Capsicum baccatum*, *C. chinense*, *C. pubescens*, *C. frutescens* y *C. annum*. El cultivo de *Capsicum* destaca por su facilidad de adaptarse a diversos climas, así como a la pequeña y mediana producción ya que no requiere de técnicas muy avanzadas para su cultivo, aunque es recomendable el uso de tecnología para obtener mejores rendimientos (Hernández, 1982; citado por Alfonso, 1993; citado por Getz, 2005).

El fruto del ají es una baya hueca, semicartilaginosa y deprimida, de color variable (verde, rojo, amarillo, naranja, violeta o blanco); algunas variedades van pasando del verde al anaranjado y al rojo a medida que van madurando. Su tamaño es variable, pudiendo pesar desde escasos gramos hasta más de 50 gramos. Su forma va de alargada puntiaguda a totalmente redonda. Las semillas se encuentran insertas en una placenta cónica de disposición central. Son redondeadas, ligeramente reniformes, de color amarillo pálido y longitud variable entre 3 y 5 milímetros (Montoya, 2002).

a. Descripción Botánica

La ubicación sistemática del ají Panca (Alvistur, 1975) es:

Reino	:	Eucariota
División	:	<i>Spermatophytas</i>
Subdivisión	:	<i>Angiospermae</i>
Clase A	:	<i>Dicotyledones</i>

Subclase	:	Simpétala o gamopétala (Bayle, 1928; citado por Alvistur, 1975) o metaclamideas (Engler, 1964; citado por Alvistur, 1975).
Orden	:	Tubifloras
Suborden	:	Solanineas
Familia	:	Solanáceas
Subfamilia	:	Solaneas
Tribu	:	Solaninas
Género	:	<i>Capsicum</i>
Especie	:	<i>chinense</i>

Según la clasificación de Smith (1996; citado por Álvarez *et al.*, 1997) el Ají Panca (*Capsicum chinense*) presenta la siguiente descripción botánica:

- a. Corola: 5, 6, 7 pétalos de color blanco verdoso ligeramente amarillento garganta blanca.
- b. Cáliz: 5, 6, 7 sépalos de puntas muy definidas con constricción en la base del cáliz.
- c. Estambres: 5, 6, 7 estambres, antera de color azul, filamento de color morado.
- d. Gineceo: un estilo morado.
- e. Flores por nudo: tres.
- f. Pedúnculo: flora curvado.
- g. Tallo: no anguloso, tallos terminalcs de color morado verduzco.
- h. Frutos de color: verde, marrón oscuro o color chocolate (maduro) de 14,5 cm de largo por 4 cm de ancho.
- i. Semillas: de color amarillo (frescas), al secarse de color marrón claro.

El *Capsicum* comprende cuatro partes principales que son: el pericarpio, placenta, semillas y tallo. En la Figura 1 se visualiza el pericarpio o la pared del fruto que conforma aproximadamente el 38% del *Capsicum*, en él se distinguen 3 capas: el exocarpio que es la capa externa, delgada y poco endurecida; el mesocarpio es una capa intermedia y carnosa; y el endocarpio que es la capa interior y de consistencia poco leñosa. En promedio, la placenta comprende el 2% del ají, 56% de semillas y un 4% de tallos (Celis, 2005).

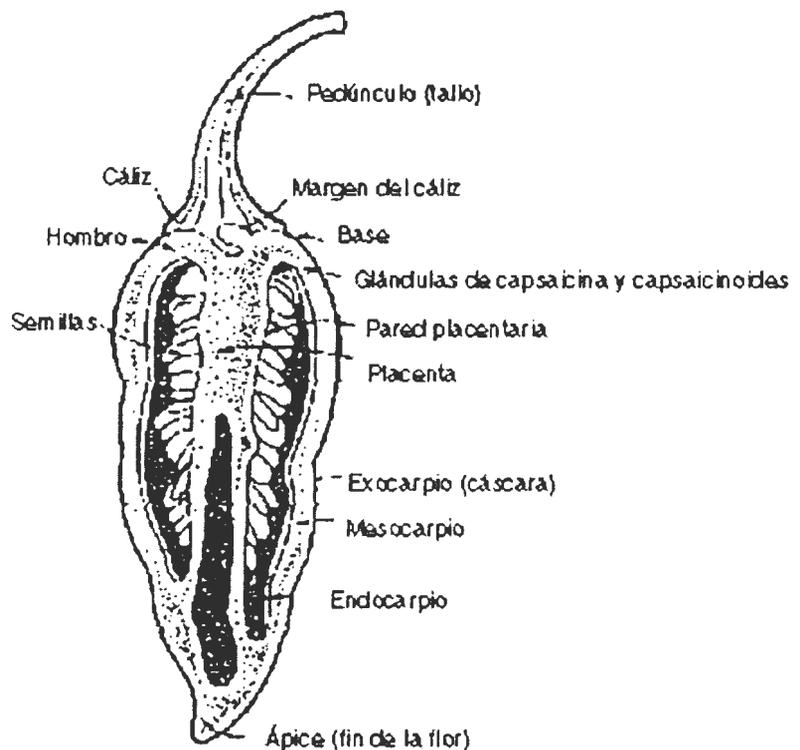


Figura 1: Anatomía del ají

Fuente: Celis (2005).

b. COMPOSICIÓN QUÍMICA

En el Cuadro 1, se observa la composición proximal del ají colorado o Panca. Así también se describe la composición del ají colorado picante, molido con sal.

El ají presenta una serie de componentes activos, siendo uno de estos la capsaicina o capsaicina, la cual es responsable del picante. Según Rodríguez (2003; citado por Colivet *et al.*, 2006), la capsaicina es muy poderosa; cerca de 100 veces más potente que la piperina (sustancia responsable del picante en la pimienta). No tiene olor ni sabor, solo estimula la liberación de neurotransmisores que estimulan los puntos receptores de dolor en la lengua y en la boca.

Cuadro 1: Composición Proximal del Ají Panca Seco

Compuesto	g/100g de porción comestible
Agua	20.2
Proteína	7.0
Grasa	7.8
Carbohidratos	58.7
Fibra	22.4
Ceniza	6.5
Ají Panca picante molido con sal	
Agua	72.6
Proteína	2.1
Grasa	1.0
Carbohidratos	8.0
Fibra	3.0
Ceniza	17.8

Fuente: Collazos *et al.* (1996).

Otro componente es el ácido clorogénico, el cual es un derivado del ácido hidroxinnámico, que es responsable de otorgarle una sensación de dulzor a las frutas y hortalizas de color verde; de ahí que se presente en el ají verde (Berdeja, 2002; citado por Colivet *et al.*, 2006). Las coumarinas también forman parte en la composición del ají, estas constituyen un grupo importante de compuestos naturales, derivados de la lactona del ácido-o-hidroxicinnámico, usualmente llamada coumarina. También encontramos a los flavonoides, pigmentos vegetales que poseen un esqueleto carbonado C₆-C₃-C₆ (Domínguez, 1975; citado por Colivet *et al.* 2006).

Wahyuni *et al.* (2011) estudiaron 32 variedades de ajíes y encontraron que las concentraciones de capsaicinoides alcanzan los 400mg/100g de fruto. Además observaron la presencia de flavonoides y glicósidos, como el quercetin, luteolin y apigenin. Entre las vitaminas hallaron que el α -tocoferol estaba presente a niveles detectables en el tejido del pericarpio de los ajíes; siendo su contenido en *Capsicum chinense* bastante elevado, 16.32 mg/100g de fruto, en comparación con otros ajíes. La vitamina C o ácido ascórbico se encontró, mayormente a un nivel superior o igual a 100 mg/100g de fruto fresco. La

provitamina A se presenta en mayor cantidad en las variedades de ají rojo y marrón, como el ají Panca.

2.1.2. USOS Y PROPIEDADES FITOQUÍMICAS

El principal uso del ají es en la alimentación. Su éxito radica en sus tres principales vías de consumo: en fresco, en conserva y como especia. No obstante, el deseo de diversificación del consumidor da paso a su uso en nuevos productos tales como las mermeladas, osmodeshidratados, chocolatería, etc. (Garcés, 2007). En la cultura peruana vemos como el ají Panca ha sido ampliamente utilizado en la comida tradicional, otorgando uno de los sabores que la caracteriza. Es en la provincia de Tumbes una de las provincias en las que se ha encontrado con más auge su aplicación en productos cárnicos como la salchicha, chorizo y relleno (Mateo *et al.*, 2009).

En los últimos años los *Capsicum* han sido ampliamente investigados por su uso como agentes antibacterianos, antioxidantes, medicinales, estas propiedades han sido relacionadas con los capsaicinoides presentes en este género, los cuales le confieren la característica picante (Pistivsek, 2005).

a. Propiedades antimicrobianas

Pistivsek (2005) afirma que la mayoría de los frutos de este género presentan actividad antimicrobiana contra *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, siendo el principal compuesto relacionado a dicha actividad la capsaicina, cuyo efecto actúa sobre fluidez de la membrana inhibiendo el transporte en la cadena de electrones. Así también se ha comprobado que el extracto etanólico del ají verde dulce (*Capsicum chinense*), a comparación del acuoso y etéreo, permiten un mayor grado de inhibición en *Escherichia coli* y *Bacillus* sp. reflejando que los componentes antimicrobianos del ají son principalmente solubles en etanol (Colivet *et al.*, 2006).

El efecto antimicrobiano del ají también se debe a los compuestos fenólicos entre como el ácido cinámico y sus derivados también ha sido encontrado en los frutos del *C. annuum* L. Las saponinas, esteroides, glucósidos que se encuentran en las semillas del

fruto, y de los cuales al menos uno – capsicoide E – tiene actividad antimicrobiana, estos actúan como inhibidores del crecimiento de algunas levaduras (Pistivsek, 2005).

b. Propiedades medicinales

El efecto medicinal de los ajíes proviene de épocas precolombinas en las que se usaban para calmar la tos y el dolor de garganta, confiriendo esta propiedad a la capsaicina. Actualmente, la capsaicina, uno de los más resalantes capsaicinoides, está siendo utilizada en trastornos dolorosos, como la artritis, causando pérdida de sensibilidad (Carmichael, 2001; citado por Garcés, 2007).

Se cree que el modo de acción de la capsaicina para aliviar el dolor es en las terminaciones nerviosas durante la liberación de un neurotransmisor llamado sustancia P. La sustancia P informa al cerebro que algo doloroso está sucediendo, por lo que la capsaicina provoca un aumento en la cantidad de sustancia P liberada. Con el tiempo, la sustancia P se agota y los lanzamientos de las terminaciones nerviosas se reducen (Bosland, 1996).

Las cremas que contienen capsaicina han reducido el dolor post-operatorio de pacientes de mastectomía, amputaciones, picazón en diálisis, dolores de cabeza, entre otros. El uso repetido de la crema aparentemente contrarrestan la producción de sustancia P en la articulación, por lo tanto, menos dolor. La reducción de la sustancia P ayuda a reducir la inflamación prolongada, que puede causar el cartílago cuando se rompe (Bosland, 1996).

c. Propiedades antioxidantes

Los *Capsicum* abundan en antioxidantes, entre los cuales los polifenoles merecen especial mención debido a sus propiedades de reacción con los radicales libres (Deepa *et al*, 2005). También pueden presentar compuestos flavonoides los cuales sobrepasan el efecto antioxidante de otros fitoquímicos (Hasler, 1998; citado por Deepa *et al*, 2005). Los colores rojos se deben a la presencia de pigmentos entre los cuales se encuentran los carotenoides oxigenados como la capsantina, capsorubina y cripto-capsina, los cuales son exclusivos de este género y han demostrado ser efectivos en inactivar los radicales libres (Matsufuji *et al.*, 1998; citado por Deepa *et al.*, 2005).

d. Otras aplicaciones

Se ha probado como un repelente contra ratones para evitar que estos roan los cables eléctricos subterráneos y para evitar que las ardillas coman semillas para pájaros. Se ha aplicado en aerosoles anti-ataques, los cuales han sustituido los gases lacrimógenos en más de un millar de departamentos de policía en los Estados Unidos, esto causará que los atacantes jadeen y se contraigan sin poder hacer nada durante 20 minutos (Bosland, 1996).

2.1.3. CAPSAISINAS Y CAPSAICINOIDES

El más potente y predominante químico encontrado en los *Capsicum* y responsable de los efectos sensoriales asociados a la pungencia, es una serie de vanillilamidas alquil de cadena recta y ramificación homóloga, conocida como capsaicinoides (Ravishankar, 1997). Topuz *et al.* (2007) mencionan que todos los capsaicinoides identificados en los frutos *Capsicum* son vanillilamidas de ácidos grasos ramificados, con 9-11 carbonos. Los capsaicinoides son sintetizados a través de la ruta del ácido cinámico. Los derivados mayoritarios son la capsaicina y dihidrocapsaicina los cuales conforman el 80% y el resto son encontrados en muy pequeñas cantidades.

La capsaicina y la dihidrocapsaicina son producidas en las glándulas de los nervios blancos que corren en el medio y sobre las paredes internas del ají, así también tenemos que las semillas que están en contacto con las nervosidades son también picantes. Contrario a lo que generalmente se cree, las semillas no son la fuente de pungencia de los capsaicinoides, sino la placenta (la estructura central del chile al que las semillas están unidas a las venas). El contenido de capsaicina en la placenta es de más o menos 2,5% de la materia seca, mientras que el contenido medio del fruto es de 0,6% y el de las semillas es de 0,7% (López, 2003).

a. Propiedades fisicoquímicas de las capsaicinas y sus homólogos

La capsaicina [N-(4-hidroxi-3-metil-metoxibenzil-8-metilnon-6-tran-enamide, (C₁₈H₂₇NO₃)] es un cristal blanco inodoro con una pungencia severa. Tiene un peso molecular de 305.199, un punto de fusión de 64,5°C, punto de ebullición a 0.01 mm Hg es

210 - 220°C, sublimación a 115°C, UV A_{\max} 227,281 nm, fácilmente soluble en carbón bisulfito, agua caliente, y ácido clorhídrico concentrado, es prácticamente insoluble en agua a condiciones ambientales, resistente a soluciones ácidas y álcali a temperatura ambiente (Ravishankar, 1997).

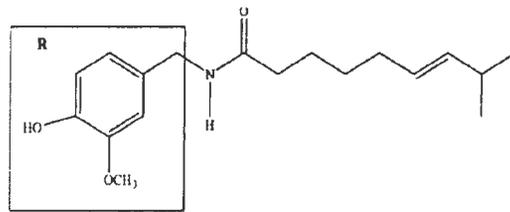
Dihidrocapsaicina [N-(4-hidroxi-3-metil-metoxibenzil)-8-metilnonenamide,(C₁₈H₂₉NO₃)] es un cristal blanco opaco inodoro con fuerte pungencia. Tiene un peso molecular de 307.215, punto de fusión entre 65.6 – 65.8°C, UV A_{\max} por debajo de 230 nm, en alcohol etílico absoluto las características de solubilidad son casi las mismas que de la capsaicina (Ravishankar, 1997).

Nordihidrocapsaicina [N-(4-hidroxi-3-metil-metoxibenzil)-8-metilnonenamide,(C₁₈H₂₉NO₃)] es un cristal blanco con fuerte pungencia. Tiene un peso molecular de 293.199, punto de fusión de 65.6°C; UV A_{\max} 280.5 nm soluble en alcohol etílico absoluto (Ravishankar, 1997).

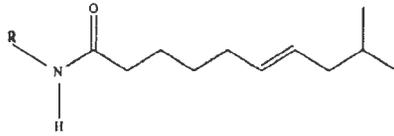
Las estructuras químicas de los compuestos que son clasificados como capsaicinoides se muestran en la Figura 2.

b. Scoville “Heat” Unit (SHU)

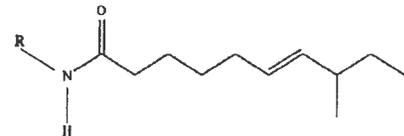
La escala de unidades Scoville es un sistema de medición de picos de los ajíes inventada por Wilbur Scoville durante la primera década del siglo XX. Su objetivo era determinar la máxima dilución del extracto de ají en la que aun fuera detectable el picor. De esta manera, si un jalapeño ha sido determinado en 4 500 unidades, significa que se necesitan 4 500 partes de solución para diluir una parte de extracto de jalapeño hasta el punto en que el picos aún pueda ser detectado; si se añade más solución, el picor ya no podrá ser detectado. Hoy en día se emplea la cromatografía de líquidos de alta resolución para medir el contenido de capsaicina en los ajíes. Este método, mucho más preciso, mide los niveles de capsaicina en partes por millón que pueden ser convertidas en unidades Scoville (López, 2003).



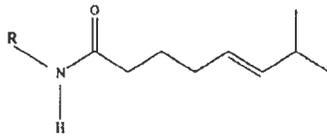
Capsaicin



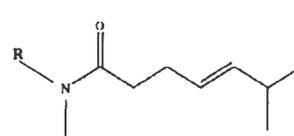
Homocapsaicin I



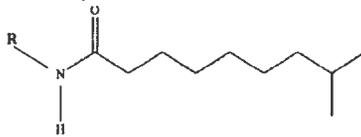
Homocapsaicin II



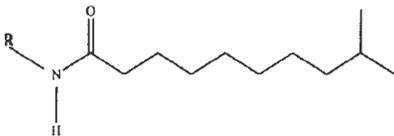
Norcapsaicin



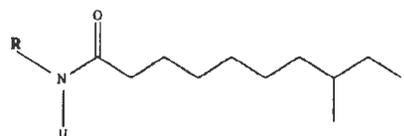
Normcapsaicin



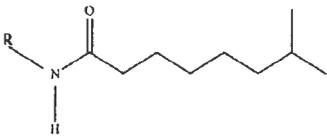
Dihydrocapsaicin



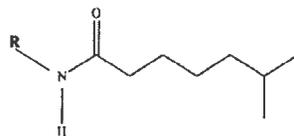
Homodihydrocapsaicin I



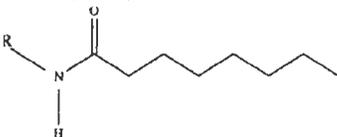
Homodihydrocapsaicin II



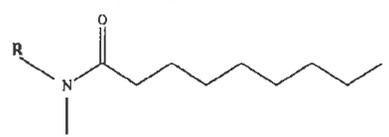
Nordihydrocapsaicin



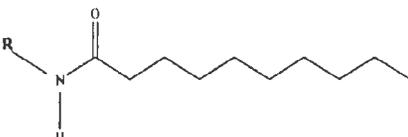
Normordihydrocapsaicin



N-Vanillyl-octanamide



N-Vanillyl-nonanamide



N-Vanillyl-decanamide

Figura 2. Estructuras químicas de los capsaicinoides

Fuente: Fernández (2007).

El procedimiento de Scoville es el procedimiento más antiguo para cuantificar la pungencia de los pimientos. Utiliza un panel de jueces para clasificar la pungencia basada en el sabor (Yao, 1992; citado por Ravishankar, 1997). La muestra es diluida hasta que la pungencia no pueda ser detectada. Esta dilución está referida como el SHU (Ravishankar, 1997).

Las unidades Scoville son calculadas en partes por millón de pungencia (ppmH) basado en el peso seco de la muestra de acuerdo a la siguiente ecuación de ASTA (1985; citado por Collins, *et al.*, 1995): $\text{ppmH} = [\text{Área del Pico de Cap.} + (0,82) (\text{área del pico de DHCap}) (\text{ppm standard}) (\text{ml acetone nitrile})] / (\text{área total del pico de la capsaicina standard}) (\text{g muestra})$. La conversión a la escala Scoville puede realizarse multiplicando los ppmH por el factor de 15.

c. La pungencia en los ajíes

El género *Capsicum* (familia *Solanaceae*) comprende más de 200 variedades entre los que se encuentran los “muy picantes” hasta los “pimientos dulces”. Estas variedades están clasificadas como “picantes” o “dulces” basadas en la Scoville “Heat” Units (SHU) (Yao, 1992; citado por Ravishankar, 1997). Mientras más picante el pimiento, mayor el valor SHU. Los valores SHU de distintas variedades se encuentran enlistadas en el Cuadro 2.

El picante de un chile depende de la concentración y tipo de capsaicinoides ya que unos son más pungentes que otros. Este contenido de capsaicinoides varía entre cultivares (una variedad que se ha originado y ha persistido bajo cultivo) de la misma especie y entre los frutos de un mismo cultivar. Además, la pungencia de un cultivo dado varía según las condiciones ambientales, tales como: la humedad, los chiles con mayor cantidad de agua son menos picosos porque tienen menos capsaicinoides por unidad de peso; y la temperatura, los climas cálidos provocan el aumento en la producción de capsaicinoides; así también, la pungencia incrementa también con la maduración (López, 2003).

Cuadro 2. Scoville “Heat” Units (SHU) para una variedad de pimientos

Variedad de Pimiento o Ají	Scoville “Heat” Units
Capsaicina pura	16 000 000
Ají habanero	150 000 – 325 000
Ají piquín	50 000 – 100 000
Ají tabasco y manzano	30 000 – 60 000
<i>Capsicum baccatum</i>	30 000 – 50 000
Ají de árbol	15 000 – 30 000
Ají serrano	10 000 – 20 000
Ají jalapeño	2 500 – 10 000
Ají mirasol y cascabel	2 500 – 5 000
Ají ancho y pasilla	1 000 – 2 000
Pimientos	0 – 100

Fuente: López (2003).

La capsaicina y dihidrocapsaicina generalmente se encuentran en una relación de uno a uno y son llamados capsaicinoides mayores, 90% de los capsaicinoides, ambos con unas 16 000 000 unidades Scoville. Los capsaicinoides menores, llamados así porque se encuentran en menor concentración, incluyen a a homocapsaicina, homodihidrocapsaicina (ambas con 8 600 000 unidades) y la nordihidrocapsaicina (con 9 100 000) (López, 2003).

2.1.4. PRODUCCIÓN NACIONAL DE AJÍ

En la Figura 3, se presenta la producción nacional del ají, la cual muestra una tendencia casi lineal entre los años 2000 al 2007, incrementándose en los años siguientes, llegando a su máximo nivel de producción en el 2010, siguiendo la misma tendencia hacia el 2012.

El ají Panca, especial o colorado es producido en las regiones de la costa central y sur (APEGA *et al.*, 2009). Rosas y Vassallo (2010) mencionan que las zonas de producción son: Barranca, Ancash (Casma, Santa, Callejón de Huaylas), Lima (Chillón, Tufín, Rímac), Tacna, Lambayeque, La Libertad, Arequipa.

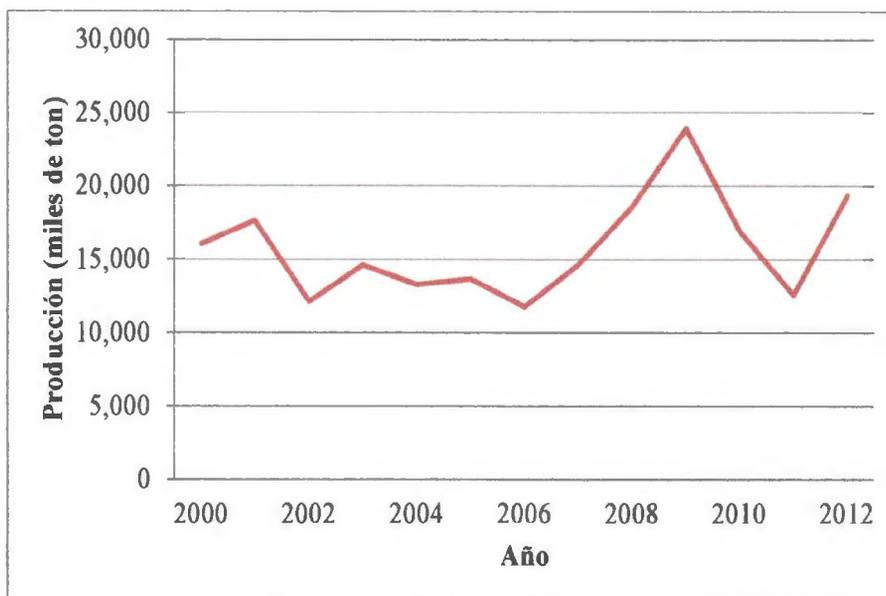


Figura 3: Producción agropecuaria, periodo 2000 – 2012

Fuente: MINAG (2012).

2.1.5. SITUACION COMERCIAL DEL AJÍ PANCA

En el Perú, se cultivan ajíes de la región en pequeña cantidad y en una economía comercial que abastece los mercados locales con ajíes regionales o que especializándose cada vez más surte de ají Panca los mercados de todo el país (APEGA *et al.*, 2009).

El ají Panca es consumido mayormente seco, siendo mínimo su consumo fresco. Estando muy detrás del consumo de rocoto o pipi de mono (APEGA *et al.*, 2009).

La exportación peruana de ají Panca es importante, así en el 2012 se alcanzaron valores FOB US\$ 129 439, observándose que en los últimos años ha aumentado el precio del ají Panca y disminuido la cantidad de producto exportado. La distribución de las exportaciones se encuentra comprendida por los Estados Unidos que es el principal destino con un 80% del total, le sigue Arabia Saudita que inicia en el 2013 comprando un 17%, el Reino Unido un 2% y Canadá el 1% restante (Koo, 2013).

2.1.6. CADENA PRODUCTIVA DEL AJÍ

La cadena productiva del ají comienza con la producción de la semilla que puede ser obtenida de los mejores frutos de la cosecha anterior como también comprándolas en el mercado o a otro agricultor. Luego, se procede con la siembra del almácigo que no aún no se realiza en el campo de cultivo. Una vez que la planta posee alrededor de cuatro hojas verdaderas se trasplanta al campo de cultivo (García, 2011).

Posteriormente, se realiza la cosecha del ají, la cual depende exclusivamente del uso que se le va a dar; es decir, se cosecha cuando el fruto es maduro o al momento de madurar. Una vez que termina esta etapa se pasa a la selección y empaque, esta se realiza según su tamaño, forma y demás condiciones físicas (García, 2011).

Después se colocan en sacos o cajas para ser transportados por los subsiguientes actores de la cadena de valor: los mayoristas, supermercados o transformadores (García, 2011).

2.2. CHORIZO FRESCO

2.2.1 DEFINICIÓN

Según la NTP 201.012 (INDECOPI, 1999), el chorizo es un embutido crudo, curado o no, ahumado o no, constituido por una masa hecha a partir de carne de porcino, bovino o ave, o mezcla de éstas, grasa de porcino, bovino o ave; todo adecuadamente triturados y mezclados, y con agregados de hortalizas, especias y aditivos. Así mismo, la norma define a los embutidos crudos como aquellos que en su procesamiento se utilizan materias primas crudas, curadas o no y que no requieren de tratamiento térmico.

Las condiciones generales establecidas por la NTP 201.012 (INDECOPI, 1999) que deberán cumplir los embutidos crudos son:

- Los embutidos crudos deberán ser preparados a partir de carne que proceda de animales de abasto que hayan sido sometidos a inspección veterinaria ante mortem y post mortem.
- Todos los ingredientes y aditivos utilizados en su elaboración deberán cumplir con los requisitos de calidad establecidos en las Normas Técnicas Peruanas pertinentes sobre el tema y en las disposiciones sanitarias vigentes.
- En la elaboración de embutidos crudos no se permitirá el uso de almidones, féculas y harina de soya.
- Su elaboración y comercialización, deben estar garantizados por el cumplimiento de las disposiciones vigentes y del Código de Buenas Prácticas de Carne y Productos cárnicos de tal manera que se asegure su calidad.

2.2.2 COMPOSICIÓN

En el Cuadro 3, se observa la composición que debe cumplir el chorizo según la NTP 201.012 (INDECOPI, 1999).

Cuadro 3: Composición del Chorizo

Calidad	Máx./Mín.	Extrafino %	Fino %	Extra %	Económico %
Carne	Mín.	70.00	60.00	30.00	20.00
Grasa	Máx.	20.00	30.00	41.00	43.00
Agua Añadida	Máx.	10.00	10.00	15.00	17.00
Proteína no Cárnica	Máx.	0.00	0.00	3.50	5.00

NOTA: En las clases Extrafino y Fino, la carne provendrá exclusivamente de carcasas cuya clasificación sea de primera y debe ser de porcino, bovino o ave. En la clase Económico, se permitirá también el uso de carne industrial.

Fuente: INDECOPI (1999).

2.2.3 LAS ESPECIAS COMO AGENTES ANTIMICROBIANOS EN PRODUCTOS CÁRNICOS

Las especias y aceites esenciales son ingredientes cuyo uso se aplica en la industria alimentaria como condimentos y saborizantes, aunque muchas de estas especias poseen

también un significativo poder antimicrobiano. En estos casos la actividad antimicrobiana se debe a sustancias químicas específicas o aceites esenciales (Jay *et al.*, 2009).

La composición química del chorizo se detalla en el Cuadro 4. Así mismo, en el Cuadro 5 se muestra el contenido de ácidos grasos saturados.

Cuadro 4: Composición Química del Chorizo Fresco

Composición por 100 g de porción comestible	gramos (g)
Agua	52.3
Proteína	21.0
Grasa	21.9
Carbohidratos	---
Fibra	---
Ceniza	3.8
Composición por 100 g de porción comestible	miligramos (mg)
Calcio	56
Fósforo	149
Hierro	4.0
Tiamina	0.3
Riboflavina	0.36
Niacina	---

Fuente: Collazos *et al.* (1996).

Cuadro 5: Ácidos Grasos Presentes en el Chorizo Fresco

Ácidos Grasos	Porcentaje (%)
Mirístico (C14:0)	0.8
Palmítico (C16:0)	26.6
Esteárico (C18:0)	12.0
Relación Poliinsaturados/saturados	0.39

Fuente: Collazos *et al.* (1996).

Sin embargo es difícil predecir qué efectos antimicrobianos derivan de las especias tal como se utilizan en los alimentos; las cantidades empleadas difieren ampliamente dependiendo del gusto y de la relativa eficiencia que es variable con respecto a la composición del producto al que se agrega. Debido, por una parte, a las diversas concentraciones de compuestos antimicrobianos que existen en las diferentes especias y, por otra, a que muchos estudios se han desarrollado empleándolos en términos de extracto seco, el cual es difícil especificar la CMI de una determinada especia frente a un microorganismo definido (Jay *et al*, 2009). En medios de cultivos, los extractos de las especias tienen menos poder inhibitor que las mismas, probablemente debido a una liberación más lenta de las sustancias volátiles en estas últimas. En los alimentos las especias muestran, en general menor poder inhibitor que en los medios de cultivo, y las bacterias Gram negativas son más sensibles que las Gram positivas siendo las bacterias lácticas las más resistentes (Jay *et al*, 2009).

Existen investigaciones que estudian el efecto antimicrobiano de distintas especias aplicado en productos cárnicos. Sallam *et al.* (2004) afirman que el ajo fresco, en polvo y el aceite de ajo proveen beneficios antimicrobianos y antioxidantes en la salchicha cruda de pollo durante el almacenamiento en frío (3°C). Por lo que sugieren que el ajo, como hierba natural puede ser usado para prolongar la vida útil de productos cárnicos, proveyendo al consumidor productos con aditivos naturales, los cuales son más saludables que los sintéticos. Bussatta *et al.* (2008) encontró que el orégano tiene un efecto antimicrobiano en salchicha fresca, a una concentración menor al 1.0 mg/ml de solución y que en la matriz cárnica puede llegar a tener un efecto bactericida.

2.2.4 REQUERIMIENTO MICROBIOLÓGICOS

Los requisitos microbiológicos que debe cumplir el chorizo según la NTP 201.012 (INDECOPI, 1999) son:

- Recuento de microorganismos aerobios mesófilos: menor a 10^6 NMP/g.
- Numeración de *Escherichia coli*: menor a 10^2 NMP/g.
- Numeración de *Staphylococcus aureus*: menor a 10^2 NMP/g.
- Recuento de *Clostridium perfringens*: menor a 10^2 ufc/g.
- Detección de *Salmonella*: ausencia en 25 g.

2.2.5. FACTORES DE ALTERACIÓN MICROBIANA EN LOS ALIMENTOS

Los alimentos constituyen un buen medio para los microorganismos quienes se desarrollan en función, por un lado, de los parámetros físico-químicos del medio y, por otro, de su propio potencial genético (Bourgeois *et al.*, 1994).

El desarrollo microbiano es afectado principalmente por la composición general del medio, es decir, por la naturaleza de la fuente de energía y de carbono y por la presencia de agua, minerales, factores de crecimiento, antioxidantes, ácidos orgánico de sustancias con una actividad especial; la composición del medio está en relación directa con ciertos parámetros, tales como el pH, la actividad de agua o el potencial de oxidorreducción. Por otro lado, el crecimiento microbiano es afectado por otros parámetros que forman a menudo parte del ambiente del producto, como el oxígeno del aire, el contenido de un determinado gas (CO₂, N₂), la temperatura, las radiaciones electromagnéticas, la humedad relativa o la presencia de ciertos inhibidores de origen exógeno (Bourgeois *et al.*, 1994).

Los microorganismos que contaminan los alimentos son quimiorganótrofos y utilizan preferentemente los hidratos de carbono como fuente de energía sobre los ácidos grasos o las sustancias nitrogenadas. No obstante, también existen los protótrofos que pueden desarrollarse a partir de una fuente de nitrógeno mineral y de un hidrato de carbono (Bourgeois *et al.*, 1994).

Con respecto a la incidencia del pH sobre el crecimiento de microorganismos Montville y Matthews (2009) mencionan que la mayoría de patógenos de transmisión alimentaria no pueden crecer a pH inferior a 4,4. A un pH inferior pueden persistir o morir muy lentamente. Organismos deteriorantes como bacterias de ácido láctico y hongos pueden crecer en productos ácidos, aunque raramente hay problemas microbianos en alimentos con pH < 3,0. El pH óptimo para la mayoría de microbios alimentarios se halla cerca de la neutralidad, siendo el límite superior para crecimiento es a un pII entre 8 y 9, pero ningún alimento es tan alcalino.

Bourgeois *et al.* (1994) sostienen que toda disminución de la actividad de agua afecta al crecimiento bacteriano. La mayor parte de las bacterias tienen un crecimiento óptimo alrededor de 0,990 a 0,995, para valores más bajos, el crecimiento disminuye.

También la naturaleza de los solutos que afectan la actividad de agua influye sobre los valores mínimos requeridos por las bacterias. En los alimentos, una actividad de agua inferior a 0,7 se considera el límite inferior que presenta todas las garantías de estabilidad, sin embargo un 0,91 indica que por debajo de esta los microorganismos se encuentran fuertemente frenados.

El potencial oxido-reducción mide la facilidad con la cual un medio pierde (si es reductor y su Eh negativo) o gana (si es oxidante y con Eh positivo) electrones. El O₂ influye en el valor de Eh de un medio, y tiene un efecto específico sobre el metabolismo. Este compuesto es utilizado por algunos microorganismos como aceptor final de electrones por una parte y, por otra, es el responsable de la formación de peróxido de hidrógeno en la cadena transportadora de electrones (Bourgeois *et al.*, 1994).

La influencia de la temperatura en el crecimiento y la fisiología es enorme; las células crecidas a temperaturas de refrigeración no solo crecen más “lentamente” que aquellas crecidas a temperatura ambiente, sino que además expresan diferentes genes y son fisiológicamente distintas (Montville y Matthews, 2009).

2.2.6. DETERIORO MICROBIOLÓGICO DE LOS EMBUTIDOS

Generalmente, el deterioro de los embutidos es de tres tipos: formación de limo, agriado y enverdecimiento. El limo se forma en el exterior de las tripas, al principio se observan colonias discretas, que finalmente confluyen para formar una capa uniforme de limo grisáceo. A partir de este material es posible llevar a cabo el aislamiento de levaduras y bacterias ácido lácticas de los géneros *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Microbacterium*, especialmente *M. thermosphactum*. Las superficies húmedas favorecen la formación de limo, que usualmente queda reducido a la cubierta externa. Con frecuencia la eliminación de este material se realiza usando agua caliente, el cual deja al producto sin alteraciones importantes (Jay, 1978).

Por lo general, el agriado tiene lugar debajo de la cubierta de estas carnes y se produce por la acción de los lactobacilos, estreptococos y organismos afines. El origen de estos organismos en las carnes preparadas se debe a los sólidos de la leche, debido a la lactosa y otros azúcares (Jay, 1978).

El enverdecimiento está relacionada a especies heterofermentativas de lactobacilos y *Leuconostoc* que son los responsables de este proceso. Estos organismos producen peróxidos que al actuar sobre los pigmentos de la carne curada dan lugar al color verde. Esta reacción es facilitada al ser inactivada la catalasa por el tratamiento térmico o por la presencia de nitrato. El H_2O_2 acumulado reacciona con determinados pigmentos cárnicos, como son el hemocromógeno óxido nítrico o la mioglobina óxido nítrico, produciendo una porfirina oxidada de color verdoso. Este proceso es originado por el crecimiento de microorganismos en el interior del núcleo central, donde el bajo potencial oxidorreductor permite la acumulación del H_2O_2 . Una pequeña proporción de oxígeno favorece el enverdecimiento y, muy frecuentemente, la zona verdosa queda reducida a determinadas partes del producto. El organismo mayormente aislado en estas carnes verdosas es *L. viridescens* (Jay, 1978).

Aunque el deterioro mohoso de estos embutidos no es habitual, es posible en condiciones favorables. Cuando los productos se almacenan en ambientes de humedad elevada sufren con más frecuencia alteraciones por bacterias y mohos. Frecuentemente, los embutidos contienen una flora más variada que la mayor parte de las carnes elaboradas, debido a los diversos condimentos añadidos que son portadores de su propia flora (Jay, 1978).

2.2.7. FUENTES DE CONTAMINACIÓN DEL CHORIZO FRESCO

La carne es uno de las principales fuentes de contaminación de los productos cárnicos, siendo su naturaleza orgánica, pH, alto contenido de proteínas y nivel bajo de carbohidratos, junto con el ambiente de almacenamiento, determinantes para el crecimiento de algunos tipos de microorganismos. Los cadáveres de animales, luego de sacrificio y curtiembre de la piel, contienen muchos tipos de microorganismos, sobre todo bacterias provenientes de la piel, tracto intestinal, del ambiente en que se criaron (pasturas, agua, suelo y estiércol) y del ambiente de los mataderos (Ray y Brunia, 2010).

Después del deshuesado, la carne cruda y la carne molida refrigerada contienen microorganismos que provienen, además, del equipo utilizado durante el procesamiento, del personal, del aire y del agua. Puede también contener mesófilos, como *Micrococcus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, coliformes y otras

Enterobacteriaceae, incluidos patógenos entéricos. Sin embargo, debido a que las carnes crudas se almacenan a temperatura baja (-1 a 5 °C) son los psicrótrofos los que predominan y constituyen el principal problema; estos pueden ser lactobacilos y leuconostocos, *Brochothrix thermosphacta*, *Cl. laramie*; algunos coliformes, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Alteromonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Aeromonas* y *Proteus*, *Listeria monocytogenes* y *Yer. Enterocolitica*. La carga bacteriana de la carne molida puede llegar a tener hasta 10⁵ microorganismos por gramo (Ray y Brunia, 2010).

2.2.8. MICROORGANISMOS EN LAS CARNES CRUDAS PICADAS

Los productos de carne cruda picada normalmente tienen una vida útil corta. La putrefacción se debe a las pseudomonas y se limita generalmente a las regiones próximas a la superficie de la masa de carne picada y a los embutidos con poca sal. La actividad metabólica de la carne cruda determina una baja tensión de oxígeno del producto cuyas condiciones son anaerobias. En el interior de los productos picados la alteración se debe principalmente a las bacterias Gram positivas, sin embargo, las enterobacteriáceas psicrótrofas constituyen una parte importante de la flora. Algunos productos cárnicos picados se envasan en películas impermeables al oxígeno para conseguir una mayor vida de almacén en refrigeración (ICMSF, 2001).

Según Varnam y Sutherland (1998), los productos cárnicos picados crudos son seguros aunque la incidencia de patógenos puede ser alta. Los productos de este tipo se cocen en el momento del consumo, o inmediatamente antes y las intoxicaciones alimentarias se pueden producir solo por consumo de carne cruda, insuficientemente cocinada o contaminación del producto cocido. Además, los productos picados crudos pueden actuar como una fuente de contaminación de los productos previamente cocidos.

El protocolo, según Pascual y Calderón (2000), para productos cárnicos crudos curado o adobados está normalmente comprendido por los siguientes controles analíticos:

- a. Recuento de colonias aerobias mesófilas (31 ± 1°C).
- b. Investigación y recuento de *Escherichia coli*.
- c. Investigación de *Salmonella* sp.
- d. Investigación y recuento de *Clostridium* sulfito-reductores.

e. Investigación y recuento de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico.

a. *Clostridium perfringens*

La presencia de *C. perfringens* es común en carnes crudas, sopas y salsas deshidratadas, vegetales crudos, y especias. Las esporas de algunas cepas son resistentes a temperaturas tan altas como los 100°C por más de una hora, siendo su presencia en los alimentos inevitable. Así también, el nivel de oxígeno puede ser suficientemente reducido durante la cocción para permitir el crecimiento de los clostridios. Las esporas sobreviven la cocción y pueden germinar y crecer rápidamente en alimentos con inadecuada refrigeración después de cocido. Las células de *C. perfringens* pierden su viabilidad cuando los alimentos son congelados o cuando se mantienen bajo refrigeración prolongada a menos que se tomen precauciones especiales (Jeffery y Harmon, 2001).

b. *Escherichia coli*

Se encuentra ampliamente distribuida en el intestino de los seres humanos y animales de sangre caliente y es el anaerobio facultativo predominante en el intestino y parte de la flora intestinal que mantiene la fisiología del huésped sano. *E. coli* es un miembro de la familia *Enterobacteriaceae*, que incluyen muchos géneros, incluyendo patógenos conocidos, tales como *Salmonella*, *Shigella* y *Yersinia*. Aunque la mayoría de las cepas de *E. coli* no se consideran como patógenos, pueden ser patógenos oportunistas que causan infecciones en huéspedes inmunocomprometidos. También existen cepas patógenas que cuando se ingieren, causan enfermedades gastrointestinales en los seres humanos sanos (Feng *et al.*, 2002).

Shardinger propuso el uso de *E. coli* como indicador de contaminación fecal basado en la premisa de que se encuentra en abundancia en las heces humanas y de animales, y por lo general no se encuentran en otros lugares. Además, puede ser fácilmente detectado por su capacidad de fermentar la glucosa y lactosa, y porque es más fácil de aislar de patógenos gastrointestinales conocidos. Por lo tanto, la presencia de *E. coli* en los alimentos o el agua se aceptó como indicativo fecal reciente y la posible presencia de patógenos (Feng *et al.*, 2002).

Escherichia coli puede utilizarse como índice o como indicador, incluso en un mismo alimento. Como indicador de contaminación fecal presenta las siguientes características (Dos Santos, 2007):

- Es la más específica de todas las bacterias de origen fecal, es decir, procede exclusivamente del intestino humano o animal.
- Su abundancia entre las enterobacterias.
- Facilidad, rapidez y fiabilidad de las técnicas utilizadas en su investigación.
- Poca resistencia en cuanto a su supervivencia en ambiente externo y, en cierto alimentos crudos o tratados, menos que las enterobacterias patógenas, sobre todo *Salmonella*. Este inconveniente hace que su presencia en alimento indique una contaminación reciente.
- Su presencia en los alimentos señala un peligro potencial de posibles patógenos entéricos con mucha más certeza que en el caso de los coliformes

c. *Staphylococcus aureus*.

Es altamente vulnerable a la destrucción por tratamiento con calor y a casi todos los agentes sanitarios. Por lo tanto, la presencia de esta bacteria o su enterotoxina en alimentos procesados o en los equipos de procesamiento generalmente son indicador de una deficiente limpieza. *S. aureus* puede causar envenenamiento severo por ingerir alimentos, puesto que han sido identificados como un agente causante de varios brotes de envenenamiento por alimentos (Bennett y Lancette, 2001).

En alimentos, la presencia de un alto número de organismos de *S. aureus* puede indicar una mala manipulación o saneamiento, sin embargo, no hay pruebas suficientes para incriminar a un alimento como causa de la intoxicación alimentaria, por lo que el aislado de la bacteria debe demostrar producción de enterotoxina. Por otro lado, las poblaciones pequeñas de estafilococos en el momento de las pruebas pueden presentar restos de grandes poblaciones que produjeron enterotoxinas en cantidad suficiente para causar la intoxicación alimentaria (Bennett y Lancette, 2001).

d. *Salmonella*

Cualquier alimento crudo de origen animal, como las carnes, las aves, la leche y los productos lácteos, los huevos y los pescados, así también como algunas frutas y vegetales pueden contener la bacteria *Salmonella*. La bacteria puede sobrevivir causando enfermedades si estos productos no son cocidos hasta una temperatura interna mínima adecuada, medido con un termómetro para alimentos, o si crudos no son lavados adecuadamente (FSIS/USDA, 2013). *Salmonella* sp. pueden causar infecciones serias y algunas veces fatales en niños, personas mayores, frágiles o inmunodeprimidos. Las personas sanas infectadas con *Salmonella* sp. a menudo experimentan fiebre, diarrea (que puede ser con sangre), náusea, vómitos y dolor abdominal. En raras circunstancias, la infección con *Salmonella* sp. puede resultar en organismos llegando a la circulación sanguínea y producir enfermedades severas como infecciones arteriales, endocarditis, y artritis (BAM/FDA, 2012).

2.3. PRUEBAS DE SUCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA

El estudio de la sensibilidad de los microorganismos hacia un antimicrobiano se realiza mediante los antibiogramas. Este se debe realizar antes de establecer algún tratamiento a una enfermedad de naturaleza antimicrobiana (Granados y Villaverde, 2003). En nuestro caso, si deseamos saber el carácter antimicrobiano del ají Panca debemos primero realizar un antibiograma con respecto a microorganismos de estudio antes de profundizar su comportamiento en una matriz alimenticia.

Las pruebas de sensibilidad son técnicas que investigan la actividad de distintos agentes quimioterápicos frente a un microorganismo; sirven para identificar el microorganismos e implantar la terapia más efectiva (Granados y Villaverde, 2003). Estos son productos químicos con la propiedad común de estar dotados de actividad antimicrobiana (Gamazo *et al.*, 2005).

2.3.1. CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA Y CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA

La sensibilidad de una bacteria a un antibiótico determinado viene dada por la concentración mínima inhibitoria (CMI), que se define como la menor concentración de antimicrobiano capaz de inhibir el desarrollo de una cepa bacteriana dada. Existen algunos métodos que permiten determinar, además, la concentración mínima bactericida (CMB), que es la menor concentración de antimicrobiano capaz de reducir al 0.1% o menos el número de bacterias del inóculo original, es decir una reducción de 1,000 veces (Gamazo *et al.*, 2005).

Lambert y Pearson (2000) mencionan que la mínima concentración inhibitoria es “la menor concentración en la que resulta un mantenimiento o reducción de la viabilidad del inóculo”. Así también, la determinación de la CMI envuelve un procedimiento semi-cuantitativo que da una aproximación a la mínima concentración de un antimicrobiano necesario para prevenir el crecimiento microbiano.

Los métodos más utilizados para la determinación del CMI son los métodos de dilución. Estos métodos pueden realizarse en medio sólido (dilución en agar) o en medio líquido (dilución en caldo) (Gamazo *et al.*, 2005).

La Concentración Mínima Bactericida tiene como objetivo determinar la menor concentración en que un antimicrobiano es capaz de matar una cepa bacteriana, con el fin de compararla con la que alcanza a una determinada localización. Se parte de los mismos métodos que para obtener el CMI por dilución en caldo y sus modificaciones. Se diferencia del CMI por algunas diluciones.

La CMB se puede calcular partiendo del método de diluciones en caldo y determinando la proporción de bacterias viables después de 18 – 24 horas de contacto con el caldo que contienen el antibiótico. Cuando hay una concentración por debajo de la correspondiente a la CMI en la cual no pueden recuperarse bacterias viables tras el subcultivo (Gamazo *et al.*, 2005).

2.3.1. MÉTODO DE DIFUSIÓN POR DISCOS, DE KIRBY–BAUER

Existen varios métodos para determinar la actividad de un agente antimicrobiano; entre los cuales el más empleado es el método de Kirby-Bauer (Colivet *et al.*, 2006).

La prueba de discos de difusión se encuentra basada en la presencia o ausencia de una zona de inhibición. Los resultados confiables solo pueden ser obtenidos con pruebas de discos de difusión que usan el principio de metodología estandarizada y medición de diámetros de zona correlacionadas con las concentraciones mínimas inhibitorias (CMIs) con cepas conocidas por ser susceptibles o resistentes a varios agentes antimicrobianos (NCCLS, 2006).

El método consiste en inocular uniformemente toda la superficie de una placa de Petri, que contiene un medio con agar. Seguidamente se colocan sobre la superficie del agar solidificado, discos de papel de filtro con concentraciones conocidas de agente antimicrobiano. Durante la incubación los agentes antimicrobianos se difunden por el agar a partir de los discos. Cuanto más lejos del disco se difunde, más baja es su concentración. Si el antimicrobiano es eficaz se forma un halo de inhibición que rodea al disco y puede medirse el diámetro (Tortora, 1993; citado por Colivet *et al.*, 2006)

Pueden existir distintos problemas durante la medición de los halos de inhibición, en el Cuadro 6, se encuentran enunciados algunos resultados aberrantes, posibles causas y acciones correctivas.

2.3.2. MÉTODO DE DILUCION EN CALDO Y AGAR

La cuantificación de la actividad *in vitro* de los antimicrobianos se evalúa habitualmente mediante alguna de las variantes de los métodos de dilución. Estos métodos se basan en la determinación del microorganismo en presencia de concentración creciente del antimicrobiano, que se encuentra diluido en el medio de cultivo (caldo o agar).

Las primeras determinaciones se realizaron empleando baterías de tubos con caldo de cultivo con un rango determinado de antimicrobiano (macrodilución). Esta metodología es muy engorrosa, por la cantidad de material y de manipulaciones necesarias para su

realización, la aparición de un sistema de inoculación múltiple para placas de agar popularizó el método de dilución en agar, en el que cada placa, con una cierta concentración de antimicrobiano, permite inocular simultáneamente un gran número de microorganismos. La utilización de micropipetas y de placas de microtitulación facilita la utilización del método de microdilución con caldo; en la actualidad se han popularizado los métodos automatizados comerciales de microdilución en caldo, fácilmente integrables en sistemas semi-automáticos de lectura (García *et al.*, 2000).

Cuadro 6: Prueba de susceptibilidad por difusión por discos
Guía para la Resolución de problemas

Resultados Aberrantes	Causas Probables	Acción Correctiva
Los halos son universalmente muy grandes en las placas control.	Bajo inóculo.	Ajustar el inóculo a la turbidez de 0,5 McFarland.
	El nutritivo del medio es muy bajo.	Usar solamente el agar Mueller-Hinton.
	Organismos de crecimiento lento (no se evidencia en los controles).	Usar el procedimiento de la concentración mínima inhibitoria (MI) solamente.
	Medio de profundidad inadecuada (muy delgado)	Usar un medio con profundidad 4 mm.
Los halos son universalmente muy pequeños en las placas control.	Inóculo demasiado concentrado.	Ajustar el inóculo a la turbidez de 0,5 McFarland.
	Medio de profundidad inadecuada (muy grueso).	Usar un medio con profundidad 4 mm.
Los resultados para un solo disco son más altos o más bajos que el nivel especificado para las cepas control.	Error en la lectura de la zona borrosa.	Repetir lectura.
	Errores de transcripción.	Estadísticamente puede esperar ocasionalmente algún resultado fuera de los rangos.
	Disco malo (los discos malos tienen tendencia a	Los valores suelen caer dentro de los rangos al

	deteriorarse gradualmente)	repetir la prueba.
	El disco no se adhirió firmemente a la superficie del agar.	
Colonias dentro de la zona de inhibición.	Cultivo mixto o contaminado.	Aislar, identificar y repetir la prueba con un cultivo puro solamente.
		Hacer una tinción Gram o alguna prueba para reconocer el contaminante. Repetir la prueba.
Zonas de inhibición solapadas.	Discos colocados muy cerca uno de cada uno.	No utilizar más de 12 discos en las placas de 150 mm y 4 o 5 discos en placas de 100. Colocar los discos no más de 12 mm del borde de la placa. Repetir la prueba.
Halos indistintos con colonias individuales evidentes en la placa de agar.	Inoculación inapropiada, Inoculación inapropiada, inóculo inadecuado.	Usar el inóculo apropiadamente ajustado y repetir la prueba.

Fuente: Ortez *et al.* (2005).

Para realizar la prueba, una serie de tubo o placas es preparada con medio, caldo o agar, en la que varias concentraciones de agentes antimicrobianos son añadidas. Los tubos o placas son entonces inoculados con una suspensión estandarizada del organismo a analizar. Luego de una incubación nocturna a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, las pruebas son examinadas y la concentración mínima inhibitoria (CMI) es determinada (NCCLS, 2006).

Según el NCCLS (2006) para determinar los puntos finales del CMI, en el caso de la dilución en caldo, se requiere comparar el crecimiento en los tubos o microplacas con respecto al control, sin agente antimicrobiano. Entonces, cuando la reducción de

crecimiento es $\geq 80\%$ luego de 16 a 20 horas, la menor concentración en la que ocurre esto es el CMI del antimicrobiano para ese microorganismo específico.

2.3.3. OTRAS METODOLOGÍAS PARA LA DETERMINACIÓN SUSCEPTIBILIDAD MICROBIANA

a. Método de Epsilon-Test

El principio de este método es una expansión de la técnica de difusión en disco. En el método E-test podemos, mediante lectura directa, determinar la concentración inhibitoria mínima (CMI). Consiste en una tira de plástico no poroso de 6 cm de largo por 5 mm de ancho que incorpora un gradiente predefinido de antimicrobiano equivalente a 15 diluciones. Siguiendo el método de difusión, una vez inoculada la placa de agar con el microorganismo, se coloca la tira de E-test sobre su superficie, produciéndose de forma inmediata una difusión del antibiótico desde el soporte hasta el agar, creándose de este modo a lo largo de la tira un gradiente exponencial de las concentraciones del antimicrobiano. Tras la incubación de las placas, se puede conservar una zona de inhibición elipsoidal y simétrica. Después de la incubación la CMI será el valor obtenido en el punto en el que el extremo de inhibición intercepta a la tira (García *et al.*, 2000).

b. Cálculo de la CMB, tolerancia y efecto paradójico

Se considera como CMB la menor concentración de antimicrobiano que ha matado el 99,9% del inóculo original, usando la fórmula: $n+2 \log n$, para la determinación del punto de corte final. Esto equivale a la disminución de 3 logaritmos decimales con relación al recuento de las colonias (ufc) del inóculo inicial (García *et al.*, 2000).

La tolerancia se define cuando la CMI y la CMB están separadas por al menos 5 diluciones dobles o cuando la CMB/CMI > 32 . El efecto paradójico aparece cuando a concentraciones superiores a la CMB aumenta el número de microorganismos viables (García *et al.*, 2000).

c. Curva de letalidad o de muerte

Es un método cinético de determinación del poder bactericida. Se valora la capacidad de matar en relación con el tiempo y con distintas concentraciones fijas de antimicrobiano. En este sentido es complementario de la CMB (García *et al.*, 2000).

Consiste en enfrentar un inóculo normalizado a concentraciones fijas de antimicrobiano en un caldo. Las concentraciones normalmente son la CMI, 2 y 4 veces la CMI y, a veces, las concentraciones que se alcanzan en suero, líquido o tejidos. Hay un control sin antibiótico. Se hace un recuento a las 0, 2, 4, 8, 24 y 48 horas habitualmente. En antibióticos muy bactericidas, puede hacerse a las 1, 2, 4, 5, y 24 horas. Los recuentos se expresan en escala logarítmica en el eje de las ordenadas y el tiempo en escala aritmética de las abscisas (García *et al.*, 2000).

Se utiliza fundamentalmente en investigación de nuevos antimicrobianos o patógenos emergentes. Como limitaciones, no es una técnica normalizada, es muy laboriosa y, en general poco reproducible ya que existen numerosos factores técnicos y metodológicos que pueden condicionar los resultados (García *et al.*, 2000).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LUGAR DE REALIZACIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en las siguientes instalaciones de la Universidad Nacional Agraria La Molina:

- Planta Piloto de Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Laboratorio de Análisis Físicoquímico de Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Laboratorio de Biotecnología de Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

3.2 MATERIA PRIMA E INSUMOS

Para la elaboración del chorizo fresco, se utilizó:

- Carne del Centro de Ventas “LA MOLINA”
- Grasa de cerdo del Centro de Ventas “LA MOLINA”
- Film de plástico “U-THIL FILM”
- Sal fina “DOS ANCLAS”
- Ajo en polvo “KARIÑO”
- Orégano en polvo “KARIÑO”
- Aji Panca fresco de “EL HUERTO” de la UNALM

3.3 CEPAS MICROBIANAS DE ESTUDIO

- *Escherichia coli* ATCC® 25922™, pasaje de La Molina Calidad Total (Anexo 17).
- *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC® 25923™, pasaje de La Molina Calidad Total (Anexo 18).

3.4 REACTIVOS

- Solución amortiguadora, pH = 4,00 a 20°C (MERCK)
- Solución amortiguadora, pH = 6,88 a 20°C (MERCK)
- Cloruro de potasio (MERCK)
- Sulfato de cobre (II) pentahidratado (J. T. BAKER)
- Sulfato de potasio anhidro (J. T. BAKER)
- Ácido sulfúrico concentrado (J. T. BAKER)
- Hidróxido de sodio (MERCK)
- Ácido clorhídrico (FERMONT)
- Ácido bórico (MERCK)
- Rojo de metilo (RIEDEL DE HAEN)
- Verde de bromocresol (RIEDEL DE HAEN)
- Éter de petróleo (M. TEDIA)
- Arena limpia acidificada (MERCK)
- Alcohol 95% (MERCK)
- Cloruro de bario al 1% (MERCK)
- Cloruro de potasio (FERMONT)
- Agar nutritivo (DIFCO)
- Caldo tripticasa soya (OXOID)
- Caldo Rappaport-Vassiliadis (DIFCO)
- Caldo tetracionato (DIFCO)
- Agar bismuto sulfito (MERCK)
- Agar Hektoen – entérico (MERCK)
- Agar xilosa lisina desoxicolato (MERCK)
- Agar triple azúcar hierro (MERCK)
- Agar lisina hierro (MERCK)

- Agar Baird-Parker (DIFCO)
- Plasma coagulasa con EDTA (BD BBL)
- Caldo Cerebro Corazón (BD BBL)
- Agar Bilis Rojo Violeta con MUG (HI-MEDIA)
- Tween 80 (MERCK)
- Peptona (CRITERION)
- Cloruro de sodio (OXOID)
- Agar oxitetraciclina gentamicina extracto de levadura glucosa (MERCK)
- Agar para recuento en placa (DIFCO)
- Agar Eosina azul de metileno (MERCK)
- Caldo Mueller-Hinton (DIFCO)
- Dimetilsulfóxido (MERCK)
- Estándar de dihidrocapsaicina y capsaicina (SIGMA-ALDRICH)

3.5 EQUIPOS Y MATERIALES

3.3.1 EQUIPOS

- Balanza de precisión “SARTORIUS”.
- Balanza de precisión “OHAUS” Mod. TA 3001.
- Balanza analítica “H.W. KESSEL” Mod. GR 200.
- Balanza analítica “OHAUS” Mod. E12140.
- Potenciómetro “HANNA INSTRUMENTS” Mod. HI 2211.
- Refrigeradora eléctrica doméstica “VESFROST”.
- Moledora de carne “MAINCA” Mod. PM-70.
- Termómetro digital tipo punzón “HANNA INSTRUMENTS” Mod. HI 14500.
- Cámara de incubación “MEMMERT”.
- Stomacher “SEWART STOMACHER” Mod. 400 Circulator.
- Cámara de bioseguridad “ESCO” Mod. LA2-4A3.
- Vortex “SCIENTIFIC INDUSTRIES” Mod. G-560E.
- Agitador magnético “HANNA INSTRUMENTS” Mod. HI 190M
- Espectrofotómetro “THERMO SPECTRONICS” Mod. Genesys 6.
- Lector de Elisa “BIOTEK” Mod. PowerWave XS2.
- Licuadora “OSTER” Mod. Osterizer Blender.

- Estufa eléctrica "S/M" Mod. "S/M".
- Bomba de vacío "VACUUM BRAND" Mod. ME 2.
- Campana extractora "ESCO" Mod. EFD 4133.
- Destilador de nitrógeno "VELP" Mod. UDK 129.
- Cocina eléctrica "QUÍMICA SERVICE S.R.L."
- Aqualab "DECAGON DEVICES" Mod. Series 3 TE.
- Estufa de vacío "MEMMERT".
- Máquina selladora de material plástico "SANWIN" Mod. SF-200S.
- Digestor de grasa "GERHART" Mod. ES14.
- Picatodo de alimentos "MOULINEX" Mod. AO5686/A90.
- Rotovapor "BUCHI" Mod. V-700.
- Centrifuga "HETTICH" Mod. -78522.
- Equipo HPLC-DAD "VWR" Mod. Hitachi Elite LaCrom.

3.3.2 MATERIALES

- Material de vidrio:
 - o Fiolas "PIREX".
 - o Placas petri "NORMAX".
 - o Tubos de ensayo "NORMAX".
 - o Pipetas "LBT".
 - o Espátula dygralsky
 - o Asa de kölle
 - o Aguja de kölle
 - o Erlenmeyer "PIREX".
 - o Matraz Erlenmeyer "NORMAX".
 - o Balones de rotovapor "BUCHI"
- Micropipeta de 1000 μ L "BRAND".
- Micropipeta de 200 μ L "DRAGON MED".
- Otros materiales como: cuchillos, tablas de picar, recipientes de plástico, espátulas, ollas de acero inoxidable.

3.6 MÉTODOS DE ANÁLISIS

3.6.1. ANÁLISIS FÍSICOS

a. Granulometría

Para la determinación de granulometría se utilizó el método propuesto por Alvarado y Aguilera (2001), utilizado también por Gonzalo *et al.* (2008), para medir la uniformidad de las partículas del polvo de ají. Para ello se utilizó un set de cinco (5) tamices, colocando el más grueso en la parte superior y el más fino en la parte inferior; al final se colocó una bandeja que recoge las partículas finas. Se colocó la muestra en el tamiz más grueso (parte superior) se procedió a agitar manualmente el set de tamices, cinco veces cada vez. Los tamices fueron previamente pesados antes de colocar las muestras y después de la agitación. Se calculó el porcentaje de muestra retenido en cada tamiz, los tamices utilizados fueron el número 20, 40, 60, 80 y 100.

b. Rendimiento del extracto etanólico

El rendimiento de oleorresina se obtuvo a partir del producto seco. Se pesaron 50 g de ají Panca seco a partir del cual se realizó por lixiviación siguiendo el procedimiento expuesto en la Figura 4, y finalmente se comparó con lo obtenido de extracto etanólico luego del secado al vacío. La determinación se realizó por triplicado.

$$\% \text{ Rendimiento (b.h.)} = \frac{\text{Peso de extracto etanólico de Ají panca}}{\text{Peso del Aji panca en polvo}} \times 100$$

c. Determinación de la A_w

La medida de a_w se determinó en el equipo Aqualab. Se colocó la muestra en una cubeta Aqualab, de manera que cubra la mitad y se procedió a leer la actividad de agua en el equipo.

3.6.2. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS

a. **Humedad**

La determinación del contenido en humedad en el ají Panca fresco y en polvo se realizó por desecación en estufa de aire forzado caliente hasta peso constante, siguiendo la Norma AOAC (1995).

Mientras que para el chorizo fresco inicial y durante el almacenamiento, la determinación del contenido de humedad se realizó siguiendo el método INDECOPI (2006).

b. **Proteína**

Para la determinación de la proteína en el ají Panca fresco y en polvo se siguió el método de la AOAC (1995), cuantificando el nitrógeno total para el método Kjeldahl.

Con respecto a la determinación de la proteína del chorizo fresco se siguió el método INDECOPI (2002).

c. **Grasa**

La determinación de la grasa en el ají Panca fresco y en polvo se realizó basado la Norma AOAC (1995), utilizando el digestor de grasa.

Para el caso del chorizo fresco la determinación de la grasa total se realizó de acuerdo al INDECOPI (2002).

d. **Fibra bruta**

Se determinó siguiendo el procedimiento de la AOAC (1995).

e. Cenizas

Se siguió el método descrito por la AOAC (1995), mediante la incineración completa de los componentes orgánicos en una muestra de alimento.

La determinación del contenido de cenizas para el chorizo fresco se llevó a cabo siguiendo el método INDECOPI (2002).

f. Contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina del ají Panca en polvo

El contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina realizado tanto para el ají Panca en polvo como para el extracto etanólico del mismo, se realizó en la Unidad de Investigación en Productos Naturales de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, se siguió el método propuesto por Wahyuni *et al.* (2011).

g. Determinación de pH

Se realizó siguiendo el método propuesto para el análisis de productos cárnicos del INDECOPI (2005).

3.6.3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

a. Recuento de Aerobios Mesófilos

El procedimiento para el recuento de microorganismos aerobios mesófilos se basó en el recuento en placa por incorporación (ICMSF, 2000).

b. Recuento de Mohos

El recuento de Mohos se llevó a cabo por siembra en superficie en Agar PDA acidificado con ácido tartárico de acuerdo a la ICMSF (2000).

c. Recuento de Coliformes

Se llevó a cabo mediante siembra por incorporación, doble capa, en agar bilis lactosa rojo neutro cristal violeta (ICMSF, 2000).

d. Presencia de Salmonella sp.

La presencia o ausencia de *Salmonella* sp. en ají Panca en polvo y en el chorizo, se realizó de acuerdo al método para el aislamiento e identificación de salmonelas a partir de los alimentos de la ICMSF (2000)

e. Recuento de *Escherichia coli*

El recuento de *Escherichia coli* durante el almacenamiento de chorizo fresco, se basó en el método de la ICMSF (2000).

f. Recuento de *Staphylococcus aureus*

El procedimiento para el Recuento de *Staphylococcus aureus* se basó en el método de la ICMSF (2000)

g. Concentración microbiana: Método McFarland

Para estandarizar la densidad del inóculo del test de susceptibilidad, fue utilizado un estándar óptico de Sulfato de bario equivalente al estándar 0.5 McFarland. La preparación del estándar de BaSO₄ se basó en la NCCLS (2006).

Para lo cual se añadió 0.5 mL de Cloruro de bario al 1% a 99.5 mL de ácido sulfúrico, se revolvió para mantener la suspensión y se mezcló completamente. Una vez en suspensión se verificó la turbidez estándar, midiendo la absorbancia por espectrofotometría. La absorbancia a 625 nm se encontró entre 0.08 y 0.13 para poder ser equivalente al estándar de 0.5 McFarland o 1.5×10^8 células.

h. Concentración Mínima Inhibitoria por Microdilución

El procedimiento para la obtención mínima inhibitoria por microdilución se basó en el Método de susceptibilidad antimicrobiana por dilución para bacterias que crecen aeróbicamente de la NCCLS (2006).

Primero, se propagó el inóculo hasta obtener masa microbiana igual a 0.5 McFarland en caldo Mueller-Hinton. Luego se diluyó hasta 10^7 ufc/ml, para después añadir 10 μ L de este inóculo a 190 μ L de matriz (caldo Mueller-Hinton, DMSO, Tween 80 y extracto etanólico) con distintas concentraciones del agente antimicrobiano (extracto etanólico de ají Panca).

La microdilución tuvo una carga microbiana inicial de 5×10^4 ufc/ml, la cual fue llevada a incubar a 37°C por 20 horas. Finalmente se compararon ópticamente los crecimientos de cada concentración con el crecimiento del control (sin agente antimicrobiano).

Las densidades ópticas fueron medidas con la siguiente programación:

1. Temperatura: 37°C.
2. Agitación 10 segundos antes cada lectura.
3. Lectura: a las 0 horas y 20 horas a 600 nm.

El crecimiento microbiano fue determinado comparando la densidad óptica de cada dilución con el control. Siendo la concentración mínima inhibitoria aquella que redujo el crecimiento en un 80%.

$$\% \text{ Crecimiento} = \frac{(\text{Abs}_{t22} - \text{Abs}_{t0})i}{(\text{Abs}_{t22} - \text{Abs}_{t0})c} \times 100$$

Donde:

i: Absorbancias a la concentración

c: Absorbancias del control

3.7 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.7.1. CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA *IN VITRO* DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE AJÍ PANCA

Previo a la obtención de la concentración mínima inhibitoria del extracto de ají Panca se caracterizó la materia prima, el fruto y el extracto etanólico. Se realizó el análisis proximal, el análisis microbiológico, el análisis granulométrico, el rendimiento del extracto, y el contenido de capsaicinoides mayoritarios.

En la Figura 4 se observa el flujo de operaciones para la obtención de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de ají Panca fresco a partir del fruto fresco.

- a. **Selección.** Esta etapa se realizó con el fin de eliminar la presencia de productos en mal estado, picados, podridos, etc. Se seleccionó al momento de la compra de la materia prima de manera manual.
- b. **Limpieza y Desinfección.** La limpieza se realizó para eliminar partículas de polvo y otras impurezas, retirándolas con agua. La desinfección, para eliminar contaminación microbiana, fue a 100 ppm cloro libre residual (CLR) (Paita y Guevara, 2002).
- c. **Secado.** El secado se realizó con el objetivo de retirar la humedad propia del ají, y obtener un producto que se pueda moler. Se secó hasta una humedad menor a 10% y a una temperatura de 65 °C (Paita y Guevara., 2002).
- d. **Molienda.** Esta operación se efectuó para disminuir el tamaño de partícula y poder realizar una mejor extracción y aplicación al chorizo experimental. El ají seco se molió en un mixer, para ser capaz de pasar a través de un tamiz N°60 (Alvistur, 1975).
- e. **Envasado.** El ají Panca en polvo se envasó evitando la humedad, el oxígeno y la luz, en bolsas plásticas de polietileno de baja densidad grueso, cubierto con aluminio (Paita y Guevara, 2002).

f. Almacenamiento. Se almacenó con la finalidad de evitar la posible interacción de compuestos sensibles al calor y que alteren el producto.

g. Extracción. Se realizó con el fin de obtener un extracto etanólico que permita determinar la concentración mínima inhibitoria del ají Panca sobre las cepas en estudio. La extracción se realizó mediante lixiviación entre el solvente, alcohol etílico, y el ají (Colivet *et al.*, 2006). Se colocaron 50g de ají en polvo en un Erlenmeyer de un litro donde se añadió alcohol etílico 96° en la proporción 1:10 (soluto: solvente). Luego, se dejó por 12 horas, hasta que el ají se impregne con el alcohol para generar una extracción homogénea del material (Rodríguez *et al.*, 2006), en condiciones que proporcionen el menor contacto con oxígeno, en un lugar fresco y con ausencia de luminosidad (Montoya, 2002); por lo cual se cubre el Erlenmeyer, en su totalidad, con papel aluminio.

h. Filtrado. Para separar el extracto lixiviado de las partículas de ají, se realiza una filtración al vacío utilizando papel filtro (Daghero y Mattea 2000).

i. Evaporación. Con la finalidad de separar el etanol del extracto de ají Panca, el producto lixiviado se llevó a un rotoevaporador a 60°C, donde se obtiene el extracto libre de solvente y se recupera en el alcohol etílico.

j. Envasado. Obtenido el extracto fue preciso evitar la degradación por efecto de la luz, absorción de humedad, evaporación de constituyentes volátiles, oxidación debida al aire y cambios debido a los microorganismos (Montoya, 2007; citado por Salamanca y Sánchez, 2009). Por lo que fue necesario depositar el extracto en frascos de vidrio tapa rosca color ámbar (Salamanca y Sánchez, 2009).

k. Almacenamiento. Para evitar cambios durante el almacenamiento, se almacenó en un lugar fresco y de baja o nula iluminación.

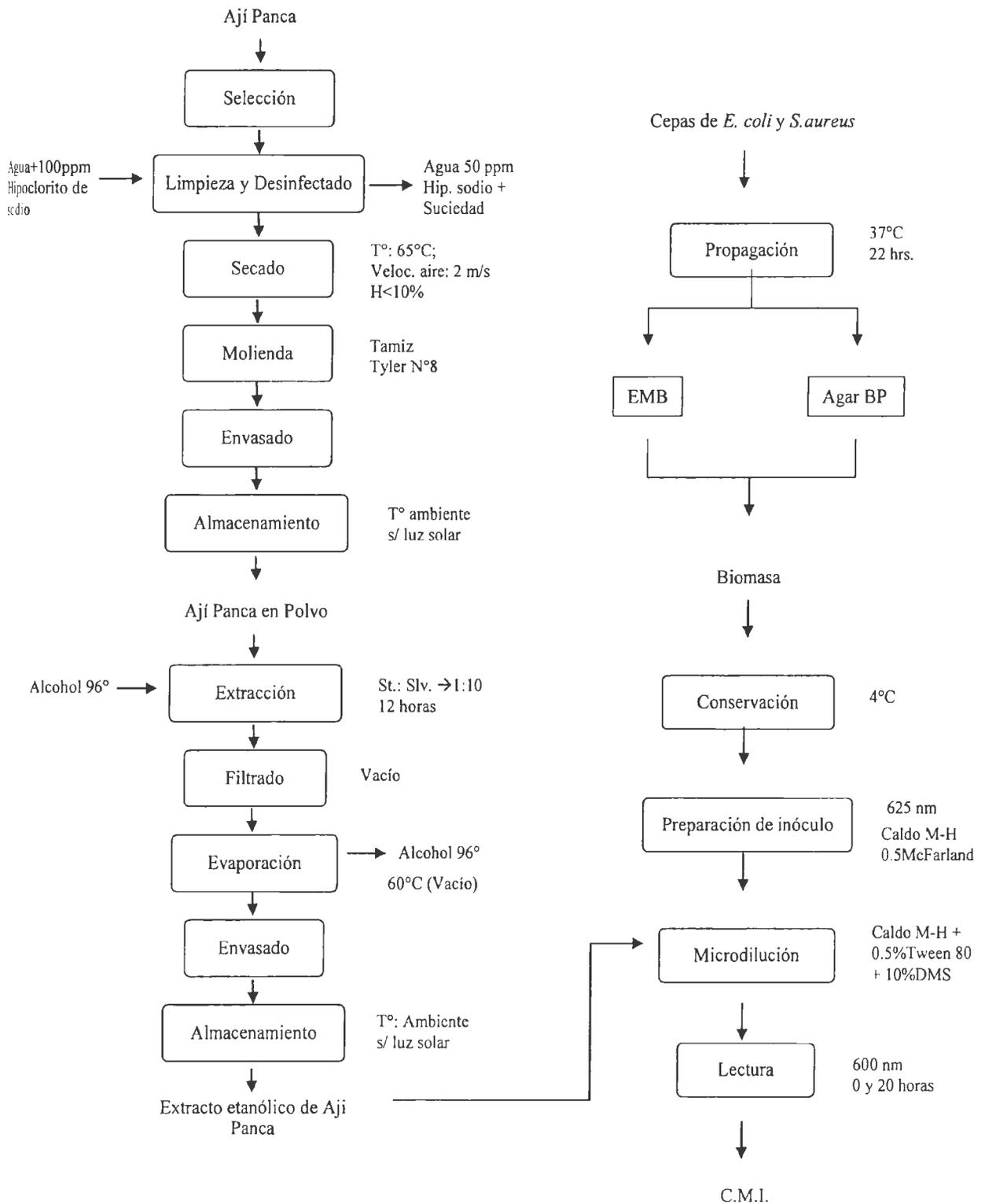


Figura 4: Flujo de operaciones para la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria por microdilución (en base a: Alvistur, 1975; Rodríguez *et al.*, 2006 y NCCLS, 2006).

l. Propagación. La propagación se realizó con el fin de obtener biomasa. Las cepas almacenadas a 4°C en agar nutritivo inclinado. Se aislaron en medio selectivo adecuado: EMB para *E. coli*; BP para *S. aureus*.

m. Preparación de inóculo. De manera que se pueda realizar la microdilución de las cepas para determinar el CMI se preparó el inóculo inicial en caldo Mueller-Hinton se inocularon las cepas *E. coli* y *S. aureus*, por separado, y fueron llevadas a una carga microbiana correspondiente a 0,5 McFarland (Ortez *et al.*, 2005).

n. Microdilución. Con el fin de realizar la lectura de la microplaca y hallar el CMI del extracto de ají Panca, se llenaron las microplacas con 200 µl de muestra: conteniendo 10 µl de cultivo en caldo Mueller-Hinton ajustado a 10⁷ ufc/ml y 190 µL de solución de caldo Mueller-Hinton con 10% de DMSO y 0,5% de Tween 80 a una concentración de extracto de ají Panca de: 0; 0.5; 1; 1.5; 2; 2.5; 3; 3.5 y 4 mg/ml (Monroy *et al.*, 2009) previamente esterilizado por filtración a través de un microfiltro de 0,45 µm (Prabuseenivasan *et al.*, 2006).

o. Lectura. Se realizó para poder obtener las densidades ópticas de los micropozos y después calcular los porcentajes de crecimiento. Se efectuaron cuatro repeticiones por cada concentración de extracto.

3.7.2. EFECTO ANTIMICROBIANO DEL AJÍ PANCA EN POLVO DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE CHORIZO FRESCO

Previamente se caracterizó el chorizo experimental en el que se aplicarían las distintas concentraciones de ají Panca e inocularon las cepas *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Se realizó el análisis proximal y el análisis microbiológico del producto.

A continuación se presenta la Figura 5 con el diagrama de flujo de operaciones para la inoculación del chorizo experimental con ají Panca.

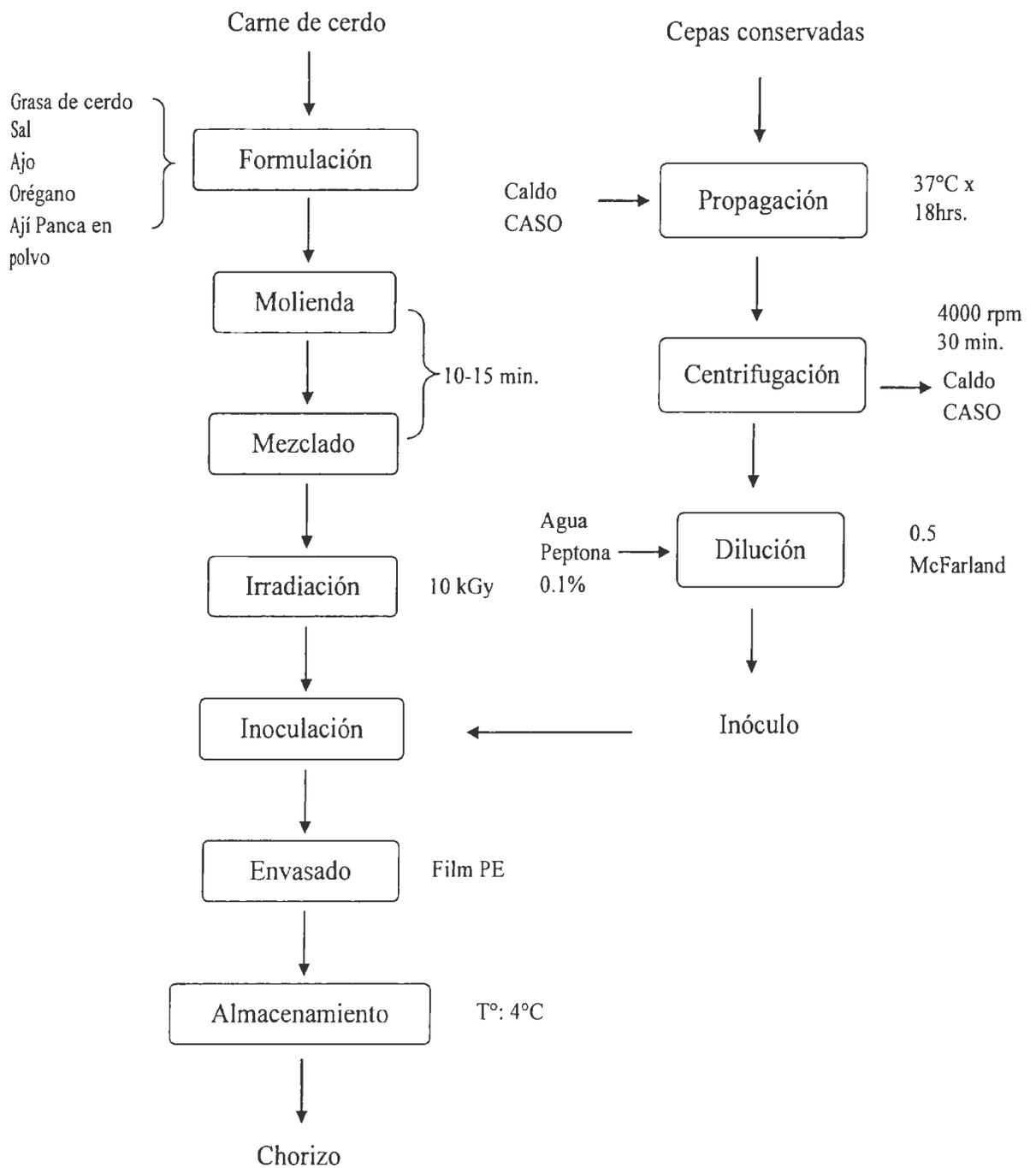


Figura 5: Diagrama de flujo de la inoculación de chorizo experimental con aji Panca (en base a: Mateo *et al.*, 2009 y Bang *et al.*, 2007).

a. **Formulación.** En el Cuadro 7 se enumeran los ingredientes y las concentraciones que conforman la formulación base de chorizo fresco. A este se le adicionaron distintas concentraciones de ají Panca, las cuales fueron obtenidas del cálculo de la Concentración Mínima Inhibitoria del extracto y extrapolado a concentraciones de ají en polvo, del que fue extraído.

Cuadro 7: Formulación del Chorizo fresco base

Ingredientes	%
Carne de cerdo molida	74
Grasa de cerdo molida	24
Sal	1.5
Ajo	0.4
Orégano	0.01
Ají panca molido	Control 0.5 CMI 1 CMI 2 CMI

Fuente: Adaptado de Mateo *et al.* (2009).

b. **Molienda y Mezclado.** Estas operaciones se realizaron para que la masa cárnica sea homogénea. Se mezclaron la carne y la grasa molidas, con la sal, el ajo, el orégano y el ají Panca (en polvo a distintas concentraciones). Para mezclar todos los componentes de la masa se utilizaron espátulas. Se mezcló hasta que la masa tuvo un color homogéneo y estuvo bien ligada (Mateo *et al.*, 2009).

c. **Irradiación.** Con el fin de eliminar el crecimiento de flora inicial contaminante, se realizó la irradiación del producto a 10 kGray en el Instituto Peruano de Energía Nuclear.

d. **Propagación.** Se realizó con la finalidad de obtener la masa bacteriana de *E. coli* y *S. aureus* que posteriormente serían inoculadas. Las cepas utilizadas para la obtención de la CMI almacenadas en medios selectivos fueron utilizadas para este propósito. Se tomó una colonia del medio selectivo e inoculó en caldo CASO para ser incubado a 37°C por 18 horas, para cada cepa.

- e. **Centrifugación.** Para poder inocular la biomasa, previamente se debe separar del medio nutritivo y diluirse en una solución compatible con el producto. Por eso a partir del caldo CASO se tomaron tubos de 10 ml para inocular el chorizo fresco, estos fueron ser centrifugados a 4000 RPM por 30 min.
- f. **Dilución.** Para poder inocular el chorizo fresco con las cepas *E. coli* y *S. aureus* se retiró el sobrenadante y se diluyó en Agua de peptona (0,1%) con una carga microbiana de 0,5 McFarland (Ortez *et al.*, 2005).
- g. **Inoculación.** Se adicionó por cada 1000 g de chorizo 10 ml de solución salina peptonada con inóculo de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, con una carga microbiana de 0,5 McFarland de manera que tendremos una carga inicial de 10^4 ufc/g en cada unidad experimental (Bang *et al.*, 2007).
- h. **Envasado.** Con el fin de tener un producto microbiológicamente controlado y evitar la recontaminación durante el embutido se envasaron manualmente los chorizos de 50 g en un film de plástico adherente de polietileno y charolas de poliestireno expandido.
- i. **Almacenamiento.** Para realizar el seguimiento de la investigación, se colocaron los chorizos en refrigeración (4°C).

3.8. DISEÑO EXPERIMENTAL

En el Cuadro 8 se presenta el diseño experimental de la presente investigación. Para la concentración mínima inhibitoria *in vitro* del extracto etanólico del ají Panca tiene como único factor la concentración del extracto, analizando el efecto comparado con un control. La unidad experimental es la microdilución, que contiene el extracto etanólico de ají Panca y la cepa, en la cual se realizó la lectura. La variable respuesta es la absorbancia, la que nos sirvió para obtener el porcentaje de crecimiento de la bacteria en el medio experimental. Se realizaron cuatro repeticiones para cada muestra.

Con respecto al seguimiento del efecto del ají Panca en el chorizo experimental se han tomado como factores: a) la concentración de ají, cuyos niveles dependerán de las

Cuadro 8: Diseño experimental de la Investigación

Etapa	CMI <i>In vitro</i>				Efecto Antimicrobiano del Ají Panca durante el almacenamiento de chorizo fresco													
Procedimiento	Ají Panca en Polvo		Extracto etanólico	CMI (mg/ml de extracto) Determinado	Elaboración de chorizo								Seguimiento (días)					
	Recep. Ají Panca	Ají Panca en polvo	Extracción		Recepción MP e In	Formulación	Mezclado	Irradiación	Inoculación	Embutido	Envasado	Almacenamiento	0	5	10	15	20	
Metodología Experimental	4 5 6 7			0.0 0.5 1.0 1.5 2.0 2.5 3.0 3.5 4.0		Control ½ CMI 1 CMI 2 CMI			<i>E. coli</i> ATCC (25922) <i>S. aureus</i> ATCC (25923) s/ inóculo									Recuento <i>E. coli</i> Análisis FQ Recuento <i>S. aureus</i>
Variables	Composición	Calidad microbiana	Rendto.	Crecimiento	Rendto.				Composición									Calidad microbiana y fisicoquímica
Controles Análisis y Parámetros	Análisis proximal Capsaicin.	Análisis proximal Capsaicin. Recuento: <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>	Peso	Diferencia de abs. Densidad	Peso				Análisis Proximal Chorizo fresco									Recuento <i>E. coli</i> Recuento <i>S. aureus</i> pH, %H, Aw

CMI: Concentración mínima inhibitoria; MP: Materia prima; In: Insumos; FQ: Fisicoquímico; Aw: Actividad de agua; Rendto: Rendimiento.

pruebas de Concentración Mínima Inhibitoria para los microorganismos: *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* tomándose las proporciones de 0; 0.5; 1 y 2; y b) los días en los que se realizan las pruebas fisicoquímicas (0, 10, 20 días) y microbiológicas (0, 5, 10, 15 y 20 días). La unidad experimental es el chorizo (50g) al que se le aplicarán los tratamientos respectivos. La variable respuesta son las medidas de pH, Aw, %Humedad y la carga microbiana de los microorganismos *Escherichia coli* ATCC® 25922™ y *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC® 25923™ durante el almacenamiento. Se analizaron por triplicado cada muestra.

3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para determinar la concentración mínima inhibitoria *in vitro* del ají Panca sobre las cepas en estudio y el efecto del mismo durante el almacenamiento del chorizo experimental se utilizó el paquete estadístico IBM® SPSS® Statistics 21. En el caso de la concentración mínima inhibitoria se aplicó el análisis de varianzas (ANOVA) y la comparación de medias de Dunnet (control), con un posterior análisis de la regresión por medio de intervalos de confianza (Anexo 16). Mientras que para el seguimiento del chorizo durante el almacenamiento se analizaron los efectos principales con el ANOVA, los efectos secundarios de los factores y la comparación de medias de Duncan.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA *IN VITRO* DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE AJÍ PANCA

4.1.1. COMPOSICIÓN DEL AJÍ PANCA FRESCO Y SECO

Los Cuadros 9 y 10 muestran los valores de los componentes mayoritarios (humedad, proteína, grasa, fibra, carbohidratos y cenizas) obtenidos en las diferentes muestras de ají Panca fresco y seco, expresados tanto en base húmeda como en base seca.

Cuadro 9: Composición proximal del ají Panca fresco

Componente	Base húmeda	Base seca
Humedad	77.17 ± 0.45%	0.00 ± 0.00%
Proteína	1.91 ± 0.24%	8.37 ± 1.30%
Grasa	1.20 ± 0.02%	5.26 ± 0.09%
Carbohidratos	5.73 ± 0.26%	25.11 ± 1.44%
Fibra	7.37 ± 0.002%	32.27 ± 0.01%
Ceniza	6.62 ± 0.61	29.00 ± 3.33

El contenido promedio de humedad fue de 77.17% en base húmeda y seca, respectivamente, en el ají Panca fresco. Al respecto, Collazos *et al.* (1996) encontraron una humedad de 72.6% para ají picante molido con sal. Estos valores denotan el alto contenido de humedad en el producto fresco.

El valor medio de humedad en el ají Panca seco es de 3.12%. Collazos *et al.* (1996) hallaron que el ají Panca seco contuvo un 20.2% de humedad, este valor es muy superior al encontrado en este estudio, debido al proceso de secado realizado al ají Panca. El proceso de secado realizado por Gibbs y O'Garro (2004), seguido por esta investigación, para

obtener un mejor contenido de capsaicinas, conlleva a una alta eliminación de agua. Sin embargo, Schmidt (1980; citado por Paita y Guevara, 2001) recomienda mantener la humedad residual a niveles de 9 a 12% para ayudar a minimizar fenómenos degradativos durante el almacenamiento. Sin embargo, Rosas y Vassallo (2010) encontraron que en la industria el ají Panca se deshidrata, entero y sin escaldado previo, hasta una humedad final menor a 5%.

Cuadro 10: Composición proximal del ají Panca en polvo

Componente	Base húmeda	Base seca
Humedad	3.12 ± 0.03%	0.00 ± 0.00%
Proteína	2.32 ± 0.22%	2.40 ± 0.23%
Grasa	6.92 ± 0.17%	7.15 ± 0.18%
Carbohidratos	27.5 ± 0.16%	37.93 ± 0.11%
Fibra	52.05 ± 0.31%	53.73 ± 0.006%
Ceniza	8.09 ± 0.09%	8.35 ± 0.09%

En el Cuadro 10 puede observarse que el componente que se encontró en mayor abundancia en el ají Panca seco fue el contenido de fibra el cual representó un 52.05 ± 0.31% expresado en base húmeda, mientras el contenido de fibra en el ají fresco fue de 7.32 y 32.27% en base húmeda y seca, respectivamente. El ají seco, según Collazos *et al.* (1996), presenta un 22.4% de fibra (b.h.) inferior al encontrado en esta investigación, y un 58.7% (b.h.) en carbohidratos mientras que el hallado fue de 27.5% (b.h.). Alvistur (1975) encontró que el ají Panca fresco presenta un menor valor fibra bruta igual a 13.44% b.s., no obstante halló un alto contenido de carbohidratos, 59.78% b.s., superior al doble del valor hallado para el producto fresco (25.11%). La disminución del porcentaje de carbohidratos en base seca se debe al efecto del calor sobre los azúcares, los cuales reaccionan con los aminoácidos generando la reacción de Maillard.

El contenido de proteína fue de 1.91 y 8.37%, expresado en base húmeda y base seca, respectivamente, en el ají Panca fresco. Alvistur (1975) encontró un contenido de proteínas en base seca de 9.63%. En el ají Panca seco el contenido de proteína fue de 2.32 y 2,40%, en base húmeda y seca, respectivamente. Este valor es bajo a comparación al

hallado por Paita y Guevara (2001) que fue de 12.13% (b.s.) en el rocoto rojo. Existe cierta degradación proteica originada por el proceso de escaldado y deshidratado, al ocurrir la desnaturalización y reacción de Maillard (Braverman, 1980).

Con respecto al contenido de grasa en el ají Panca seco fue de $6.92 \pm 0.17\%$ y en el fresco $1.2 \pm 0.02\%$, expresados en base húmeda. Los contenidos de grasa hallados para el ají seco y fresco fueron similares al 1% y 7.8%, reportado por Collazos *et al.* (1996). Sin embargo, Paita y Guevara (2001) encontraron valores bastante bajos de grasa, 1.15% (b.h.) para el fruto seco y 0.12% en el fresco.

El contenido de ceniza en el ají Panca fresco es de 29% (b.s.) para lo cual Alvistur (1975) halló un contenido de 11.85% (b.s.). De la misma manera, los niveles de ceniza en el producto seco fue de 8.09 y 8.35% en base húmeda y seca, respectivamente. El contenido de ceniza expresado en base seca cumple con lo estipulado en la industria, que es de 8% (Alvarez *et al.*, 1997). El contenido de ceniza es una medida del total de minerales o componentes inorgánicos presentes en un alimento, este puede variar no solo por efecto del secado (Sikorski, 2002) sino que depende también de la fertilidad del suelo, genética de la planta y el ambiente en el que crece llegando a ocasionar que este componente sea diferente incluso entre ajíes de la misma especie (Fennema, 2000).

Los *Capsicum* presentan una gran variabilidad en su composición, debido a que existen varios factores durante la siembra, cosecha y postcosecha que permiten desarrollar algunos compuestos más que otros en las distintas temporadas de recolección (Fernández, 2007).

4.1.2. CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL AJÍ PANCA SECO

En el Cuadro 11 se recogen los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos realizados en las muestras de ají Panca en polvo. Los recuentos medios de aerobios mesófilos no superaron las 5 unidades logarítmicas, límite inferior del criterio microbiológico (MINSA, 2008). Sin embargo, el recuento de mohos en el ají Panca seco es superior al límite máximo tolerado por el criterio. Mientras que los coliformes se encuentran entre las 2 y 3 unidades logarítmicas, tolerables por la norma. Finalmente, la

ausencia de *Salmella* sp. en todas las repeticiones de la muestra de ají Panca seco fue positivo.

Cuadro 11: Recuento microbiológico (Log₁₀ ufc/g) del ají Panca en polvo

Agente Microbiano	Promedio (Log ₁₀ ufc/g)
Acrobios mesófilos	4.71 ± 0.27
Mohos	4.10 ± 0.16
Coliformes	0.87 ± 1.50
<i>Salmonella</i> sp.	Ausencia/25g ^a

^a Ausencia en las tres repeticiones

Los recuentos de flora aerobia mesófila viable fue de 4.71 Log₁₀ ufc/g para el ají Panca en polvo. Este valor se encuentra dentro de la norma (MINSa, 2008) que establece un recuento mínimo de 5 Log₁₀ ufc/g. El ICsMF (1998) menciona que la desecación rara vez reduce el número de microorganismo y puede aumentar, llegando a encontrar poblaciones comprendidas entre los 3 y 4 Log₁₀ ufc/g en hortalizas deshidratadas colocadas en bandejas insufladas con aire caliente; sin embargo el pimentón, puede llegar a tener un valor de 6 a 7 Log₁₀ ufc/g.

El resultado de los recuentos de mohos, 4.10 Log₁₀ ufc/g fue mayor a lo estipulado por el criterio microbiológico (MINSa, 2008) que es de 4 unidades logarítmicas como máximo. Es común encontrar este tipo de microorganismo en hortalizas desecadas llegando a tener entre 4 a 5 Log₁₀ ufc/g con una incidencia del 8% (ICsMF, 1998).

Con respecto a los coliformes encontrados no superan la unidad logarítmica ni el límite inferior establecido por el MINSa (2008) de 2 Log₁₀ ufc/g. La presencia de coliformes no se considera un indicador útil de contaminación fecal, sin embargo, la presencia de *E. coli* puede indicar un motivo de preocupación; Mayormente, los recuentos de coliformes con menores o iguales a 1 Log₁₀ ufc/g, con una incidencia del 61% (ICsMF, 1998).

La detección de *Salmonella* sp. en las muestras de ají Panca en polvo fueron negativas, no se encontró esta cepa en ninguna de las repeticiones realizadas. Las

salmonelas son de interés cuando se encuentran en alimentos que son consumidos crudos o si se contaminara después de cocción (ICMSF, 1998).

4.1.3. GRANULOMETRÍA DEL POLVO DE AJÍ PANCA

La granulometría del ají Panca seco se realizó para caracterizar el tamaño de partícula, que es importante en el proceso de obtención del extracto etanólico por lixiviación. Como se observa en el Cuadro 12 y en la Figura 6 el 77.88% de la masa total del ají Panca tienen un tamaño de partícula menor a los 850 μm (tamiz Tyler N°20).

Cuadro 12: Granulometría del ají Panca en polvo

N°	N° tamiz Tyler	Luz de malla (μm)	Cantidad (g)	Porcentaje (%)	Porcentaje acumulado (%)
1	> 20	> 850	11.05	22.12 \pm 0.354	100.00 \pm 2.788
2	20-30	600-850	10.9	21.82 \pm 0.424	77.88 \pm 2.765
3	30-40	425-600	9.8	19.62 \pm 1.838	56.06 \pm 2.733
4	40-50	300-425	6.85	13.71 \pm 1.202	36.44 \pm 2.022
5	< 50	<300	11.35	22.72 \pm 1.626	22.72 \pm 1.626

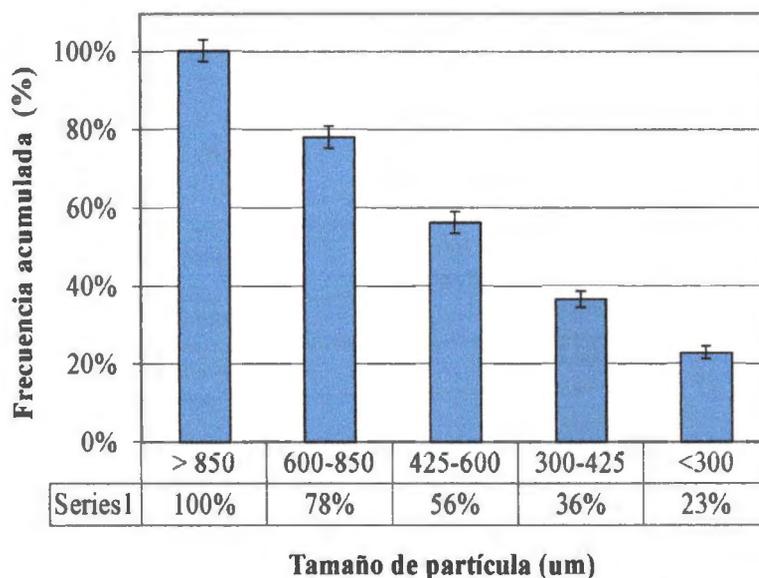


Figura 6: Diagrama de Pareto de la granulometría del ají Panca en polvo

En el presente estudio, la molienda de ají Panca seco se realizó para poder obtener, en primer lugar, un extracto etanólico, el cual nos permitió realizar la prueba de concentración mínima inhibitoria *in vitro* en las cepas *E. coli* y *S. aureus*. Caro (1987) realizó una investigación sobre la extracción de oleoresina de ají escabeche (*C. pendulum*) en el cual determina un tamaño de partícula de 995 μm de diámetro.

En segundo lugar, se quiso aplicar el ají Panca seco y molido en la masa chorizo fresco a diferentes concentraciones para su posterior seguimiento microbiano. Según Rosas y Vassallo (2010) en la industria el ají Panca en polvo debe tener un tamaño de partícula menor a la malla N°40 MESH, equivalente a 425 μm , en un 90% del producto. No obstante, Gonzales *et al.* (2008) encontraron que el 76.78% de ají dulce secado y molido tiene un tamaño inferior al tamiz N°80 (0.850 mm) valor muy similar al encontrado en el presente estudio, además hallaron que las partículas de ají Panca no presentaron uniformidad al igual que los resultados mostrados en el Cuadro 12.

4.1.4. CONTENIDO DE CAPSAICINOIDES MAYORITARIOS DEL AJÍ PANCA EN POLVO

En el Cuadro 13 se muestran los valores del contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina provenientes del ají Panca en polvo.

Cuadro 13: Contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina en el ají Panca en polvo

Compuesto	Ají Panca en polvo (mg/g de muestra seca)
Capsaicina	0.248 \pm 0.003
Dihidrocapsaicina	0.160 \pm 0.001

Los valores engloban a los encontrados en el ají Panca en polvo que fueron 0.248 y 0.160 mg de capsaicina y dihidrocapsaicina, respectivamente, por gramo de muestra seca en polvo de ají Panca. En un estudio realizado por Gibbs y O'Garro (2004) se encontró que el contenido de capsaicina de los *Capsicum chinense* sp. provenientes del Caribe varía entre 0.230 y 16.50 mg/g, y para la dihidrocapsaicina entre los 0.010 y 0.350 mg/g de muestra. Sin embargo, el valor de capsaicina es superior a los encontrados por Fernández

(2007) que fueron desde 0.158 a 0.198 mg/g, y el contenido de dihidrocapsaicina entre 0.095 y 0.196 mg/g de *Capsicum chinense*. Estos valores engloban a los encontrados en la investigación.

Fernández (2007) también menciona que por lo general, la capsaicina aparece en mayor proporción que la dihidrocapsaicina, pero en ocasiones esta proporción cambia debido al uso de distintas variedades de pimientos. Así mismo, afirma que existe una gran disparidad en la concentración de capsaicinoides en pimientos picantes dependiendo de la variedad, estado de maduración o condiciones de crecimiento que haya tenido el *Capsicum*.

Garcés (2007), clasificó la pungencia del *Capsicum annum* L. según su contenido de capsaicinoides en no pungente, ligeramente pungente, pungente y extremadamente pungente, siendo 1800 mg/g de muestra seca equivalente a un ají no pungente. Al ser el resultado obtenido en esta investigación 408 mg/g aproximadamente de capsaicinoides, podría clasificarse como no pungente. Así mismo, para Fernández (2007) el ají Panca en polvo está clasificado como un ají picante suave, puesto que su contenido de capsaicina estaría comprendido entre 0.1 y 3 mg/g de muestra seca.

4.1.5. RENDIMIENTO DE EXTRACTO ETANÓLICO A PARTIR DE AJÍ PANCA EN POLVO

El objetivo de la obtención del extracto de ají Panca en el presente estudio fue hallar la concentración mínima inhibitoria *in vitro* del ají sobre las cepas de *E. coli* y *S. aureus*. Por lo que se necesita que este contenga la mayor actividad antimicrobiana, que según Colivet *et al.* (2006) se obtiene de la extracción con etanol.

En el Cuadro 14 pueden observarse los valores del rendimiento del extracto etanólico de ají Panca, en extracto húmedo y extracto seco, a partir del producto en polvo.

Cuadro 14: Rendimiento de extracto etanólico de ají Panca

Análisis	Base húmeda (g/ 100g producto)	Base seca (g/ 100g materia seca)
Rendimiento	4.00 ± 0.53	4.13 ± 0.55

El rendimiento de extracto etanólico fue de $4.00 \pm 0.53\%$ en base húmeda. Rodríguez *et al.* (2000) encontraron que las variedades de *Capsicum chinense* estudiadas presentaron porcentajes de oleorresina de 4.2 hasta 7.7%, a partir del fruto seco, similares a los resultados del estudio.

4.1.6. CONTENIDO DE CAPSAICINOIDES MAYORITARIOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE AJÍ PANCA

En el Cuadro 15 se muestran los valores del contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina provenientes del extracto etanólico de ají Panca.

Cuadro 15: Contenido de Capsaicina y Dihidrocapsaicina en el extracto etanólico de ají Panca

Compuesto	Extracto etanólico de Aji Panca (mg/ g de muestra seca)
Capsaicina	10.074 ± 0.480
Dihidrocapsaicina	6.807 ± 0.173

En la presente investigación se hallaron los contenidos de capsaicina y dihidrocapsaicina, 10.074 y 6.807 mg/g de muestra seca del extracto etanólico, respectivamente. Estos valores son superiores a los encontrados por Rodríguez *et al.* (2000) los cuales varían entre los 5.675 y 1.685 mg/g de capsaicinoides en muestras de *Capsicum chinense*. Fernández (2007) menciona que el contenido de capsaicinoides de la oleorresina depende de la variedad del *Capsicum*, y que normalmente pueden superar los 5 mg/g de muestra de oleorresina (FAO, 2002; citado por Fernández, 2007), representando generalmente el 70% por la capsaicina, y el 20% la dihidrocapsaicina.

López *et al.* (2011) concluyeron que el rendimiento de los capsaicinoides es mayor cuando se utiliza el método de extracción por lixiviación, aun cuando se obtenga un menor rendimiento de extracto, la calidad es superior con respecto al método Soxhlet. Además considera que a lixivación con etanol es el método más adecuado si se desea obtener capsaicinoides a partir de chile habanero (*Capsicum chinense*).

4.1.7. CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA *IN VITRO*

a. Concentración mínima inhibitoria *in vitro* de *E. coli*

En la Figura 7, se observa cómo cambia el crecimiento de *E. coli* en función a la concentración de extracto de ají Panca en el medio. Esta relación nos dice que existe una pérdida de crecimiento del 10.14% al aumentar en 1mg/ml la concentración de extracto etanólico de ají Panca.

Según la NCCLS (2006), la lectura del punto final de la concentración mínima inhibitoria debe ser $\geq 80\%$ de reducción del crecimiento, comparado con un control. En las pruebas *in vitro* con *E. coli* y *S. aureus* se tuvo un control, el cual no contenía extracto de ají Panca. Por lo que el control presentó un crecimiento del 100% luego de 20 horas de incubación a 37°C.

Por lo tanto, el porcentaje de crecimiento debe ser menor o igual al 20%, sin embargo, las concentraciones de ají Panca con las que se trabajaron no llegaron a obtener esta inhibición sobre las cepas en estudio, debido a la saturación del microfiltro durante la esterilización por frío. Por lo que se ajustó una regresión línea para obtener la concentración mínima inhibitoria.

La función con la que cambia la carga microbiana nos permite hallar la concentración mínima inhibitoria al 20% del crecimiento total, el cual fue de 4.82 mg/ml. Cabe resaltar que al aplicar la función de correlación a una concentración de extracto de 4.82 mg/ml, los intervalos de confianza al 20% varían desde 0.07 hasta 54.74%.

El análisis estadístico de los resultados muestra que existen diferencias significativas entre los porcentajes de crecimiento a distintas concentraciones de extracto con respecto a un control. Sin embargo, no todos presentan diferencias significativas entre sí. También se observa que la gráfica está dividida en dos, la primera (de 0 a 0.5 mg/ml de solución) denota una rápida caída de la biomasa, mientras que en la segunda (concentraciones mayores a 0.5 mg/ml) parece mantenerse casi constante. Hernández (2003) realizó una curva de letalidad para *E. coli* con distintas concentración de extracto acuoso de ajo, de la cual obtuvo que a concentraciones bajas había un detrimento acelerado

de la carga microbiana, mientras que mayores concentraciones la disminución era paulatina casi constante, sin embargo llega a visualizarse la concentración a la cual el extracto inhibe por completo la carga microbiana. Al parecer a bajas concentraciones los *E. coli* detectan el extracto, disminuyendo su crecimiento aceleradamente. Luego la concentración va en aumento y estos saturarían sus receptores, por lo que el crecimiento disminuiría lentamente.

Zhang *et al.* (2010) afirman que la capsaicina presenta una actividad moderada sobre *E. coli*. La mayor resistencia de las bacterias Gram negativas a los aceites esenciales ha sido atribuida en parte a la gran complejidad de la doble membrana conteniendo la envoltura celular de estos microorganismos en contraste con la membrana de estructura simple de las Gram positiva (Janssen *et al.*, 1987; citado por Bussatta *et al.*, 2008). Esto puede corroborarse en la presente investigación al comparar las pendientes de las curvas de inhibición para *E. coli* (10.14% por cada mg de extracto/ml de solución) y *S. aureus* (11.59% por mg/ml), siendo más susceptible la bacteria Gram positiva por presentar una pendiente mayor.

b. Concentración mínima inhibitoria *in vitro* de *S. aureus*

En la Figura 8, se observa cómo cambia el crecimiento en función a la concentración de extracto de ají Panca en el medio. La relación denota que al aumentar en 1mg/ml la concentración de extracto etanólico de ají Panca existe una pérdida de crecimiento del 11.59%.

La función lineal que relaciona la carga microbiana con la concentración de extracto de ají nos permite obtener una concentración mínima inhibitoria, o crecimiento de 20% del total, de 5.61 mg/ml. Cabe resaltar que al aplicar la función de correlación a una concentración de extracto de 5.61 mg/ml, el crecimiento del 20% varía desde 0.00 hasta 57.45%. La saturación en la microfiltración de la solución fue un limitante para obtención del CMI a concentraciones superiores a las evaluadas.

Monroy *et al.* (2009) hallaron que la concentración mínima inhibitoria para el chile ancho fue de 1.0 mg/ml de solución, la cual fue mayor que la encontrada para *Salmonella* y

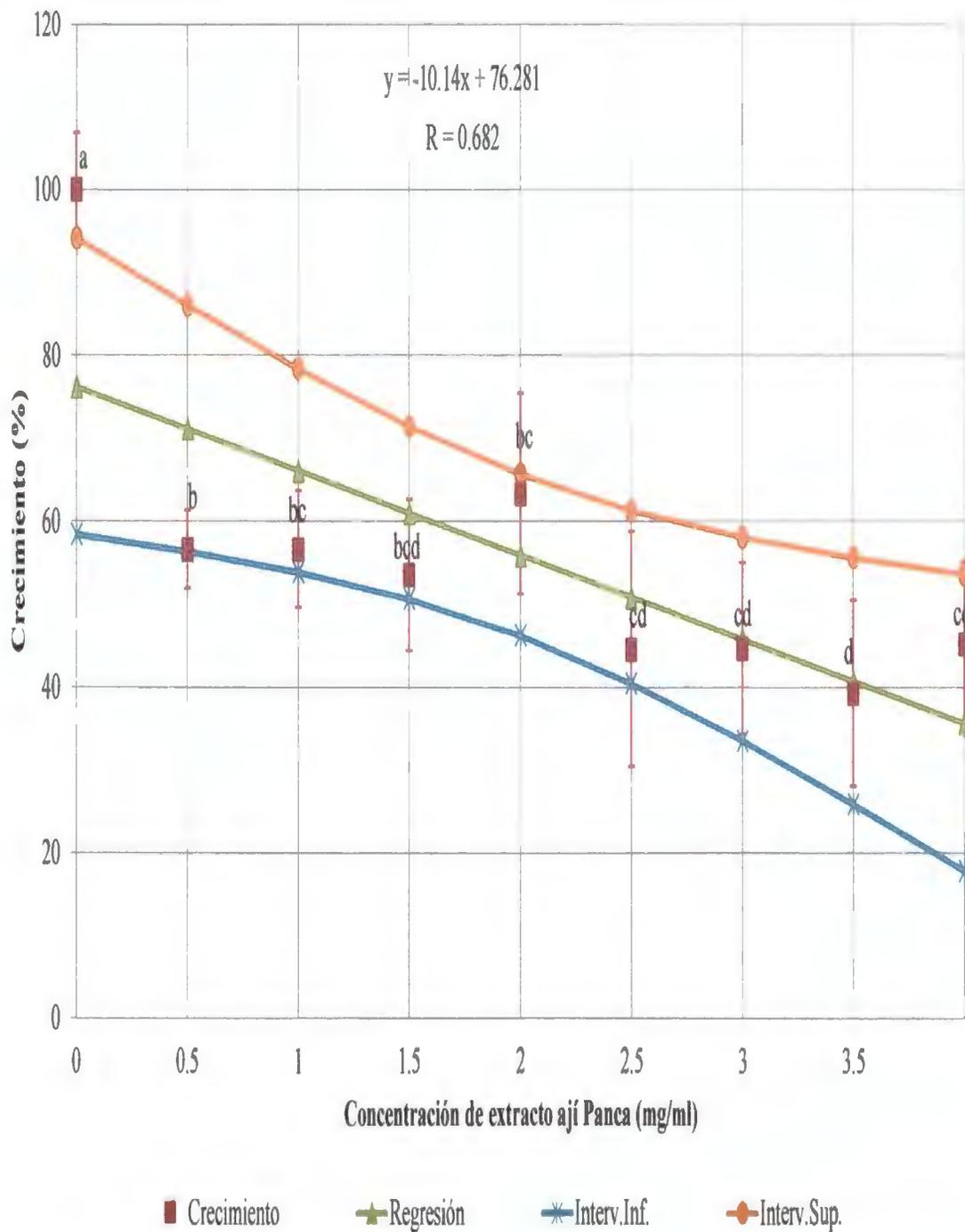


Figura 7: Concentración Mínima Inhibitoria *In vitro* del Extracto Etanólico de Ají Panca sobre *Escherichia coli*

Listeria. Yang *et al.* (2009) estudiaron el efecto del *Capsicum* para *S. aureus* encontrando que el CMI *in vitro* fue de 12.5%.

El análisis estadístico de los resultados expone que existen diferencias significativas entre los porcentajes de crecimiento en las distintas concentraciones de extracto con respecto a un control. Sin embargo, los distintos niveles de concentración no presentan diferencias significativas entre sí. El gráfico nos permite visualizar la manera en que se inhibe *S. aureus*, que a diferencia de *E. coli*, presentan una tendencia más uniforme, disminuyendo la carga microbiana cuanto mayor es la concentración de extracto de ají Panca.

Zhang *et al.* (2010) afirman que la capsaicina presenta una actividad significativa sobre *S. aureus*. Pistivsek (2005) también menciona que la actividad antimicrobiana de los ajíes se debe a la capsaicina, la cual actúa sobre la fluidez de la membrana inhibiendo el transporte en la cadena de electrones. El *S. aureus* por ser un Gram positivo presenta una membrana celular más simple, haciéndolo más susceptible.

Davidson (1993; citado por Monroy *et al.*, 2008) menciona que las bacterias Gram positivas son generalmente más susceptibles a los compuestos polifenólicos no polares que los microorganismos Gram negativos. Del mismo modo, estos componentes presentan más de tres grupos hidroxilo confiriéndoles una alta actividad antimicrobiana (Mori *et al.*, 2007; citado por Monroy *et al.*, 2009), esto es debido a que impiden la captación de iones hierro e hidrogeno que son vitales para la síntesis de proteínas en la célula (Scalbert, 1991; citado por Monroy *et al.*, 2009). De igual forma, algunos flavonoides tienen su participación en la inhibición debido a que estos agentes generalmente se relacionan con la inhibición de síntesis del ADN y ARN y otras macromoléculas (Ferrel *et al.*, 1979; citado por Monroy *et al.*, 2009).

Los compuestos fenólicos, presentes en los *Capsicum*, también tienen propiedades antimicrobianas. El efecto tóxico sobre los microorganismos, están relacionados directamente con los lugares y el número de grupos hidroxilo (OH) en el anillo, de forma que un aumento en la hidroxilación está ligado a una mayor toxicidad. El mecanismo parece estar relacionado con la inhibición enzimática por los compuestos oxidados, posiblemente mediante reacciones de grupos sulfidrilo o por interacciones no específicas

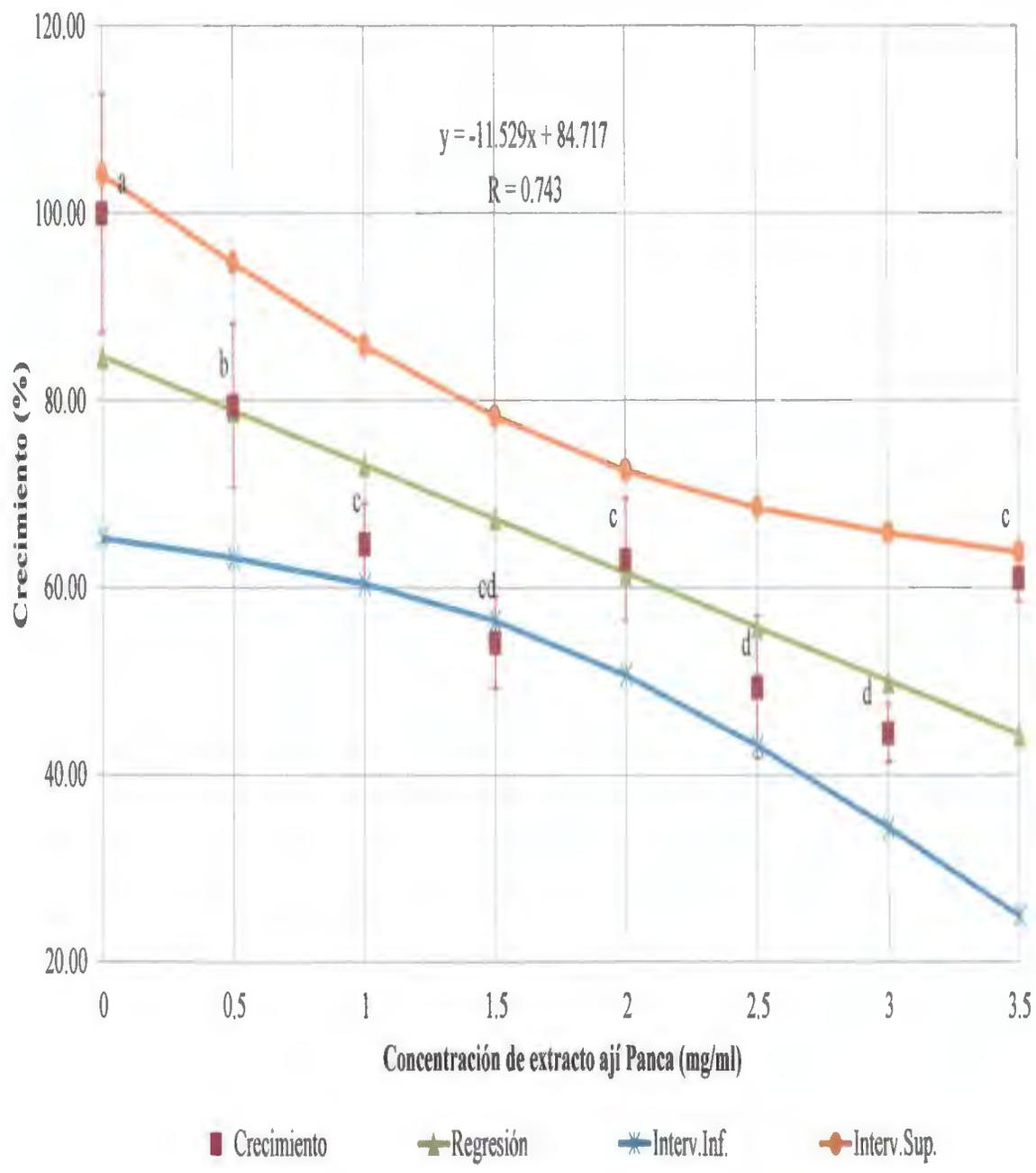


Figura 8: Concentración Mínima Inhibitoria *In vitro* del Extracto Etanólico de Aji Panca sobre *Staphylococcus aureus*

con proteínas (Domingo y López, 2003). Las proteínas de las bacterias Gram positivas se encuentran en la única membrana citoplasmática interior envuelta por el peptidoglucano, mientras que en las Gram negativas las proteínas están en la membrana externa e interna. Estudios sobre el efecto de la capsaicina en una membrana bifásica, denotan que la capsaicina a altas concentraciones aumenta la rigidez de una membrana experimental conteniendo diferentes fosfolípidos y colesterol (Tsuchiya, 2001).

En el Cuadro 16 se muestra la concentración mínima inhibitoria del ají como extracto etanólico, por su contenido de capsaicina y como ají panca en polvo. El contenido de ají panca en polvo se incorpora a distintas concentraciones en el chorizo experimental.

Cuadro 16: Concentración mínima inhibitoria del ají Panca sobre *E. coli* y *S. aureus*

	mg Extracto/ ml solución	mg Capsaicina /ml solución	mg Ají Panca en polvo/ ml solución
<i>E. coli</i>	4.92	0.049	195.79
<i>S. aureus</i>	5.61	0.057	227.88

4.2. EFECTO ANTIMICROBIANO DEL AJÍ PANCA EN POLVO DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE CHORIZO

4.2.1. COMPOSICIÓN PROXIMAL DEL CHORIZO FRESCO

En el Cuadro 17 se muestran los valores de los componentes mayoritarios (humedad, grasa, proteína bruta, ceniza) obtenidos de las muestras de chorizo fresco, expresadas tanto en base húmeda como seca.

Cuadro 17: Componentes mayoritarios del chorizo fresco

Componente	Base húmeda	Base seca
Humedad	55.87 ± 1.20 %	0.00 ± 0.00%
Proteína	18.2 ± 0.04 %	41.2 ± 0.09 %
Grasa	22.03 ± 1.43 %	49.92 ± 16.77 %
Ceniza	2.32 ± 0.13 %	5.25 ± 0.30 %

Los componentes mayoritarios en el chorizo es el agua ($55.87 \pm 1.2\%$), la grasa ($22.03 \pm 1.43\%$) y la proteína ($18.2 \pm 0.04\%$). No se presentaron diferencias en los valores obtenidos de humedad, proteína, grasa y ceniza, ya que tuvieron un coeficiente de variación con respecto a la media de 2.1, 0.2, 6.5 y 5.6%, respectivamente. En términos de extracto seco, el coeficiente de variación de los valores obtenidos con respecto a la media son menores al 5.7% para todos los componentes excepto para la grasa, que se presenta una variación mayor, llegando a ser de un 33.6%.

Los valores encontrados en el presente estudio fueron muy similares a los observados por Collazos *et al.* (1996) para quienes el contenido de agua es de 52.3% siendo un poco menor que el encontrado en esta investigación el cual fue de $55.87 \pm 1.20\%$. Así también, el contenido de humedad en el chorizo es parecido al 53.14% (b.h.) encontrado por Chau (2003) para chorizo parrillero. Coretti (1971) menciona que la humedad favorece la multiplicación bacteriana. Al respecto Lawrie (1998), señala que es la disponibilidad de humedad lo que determina el crecimiento de los microorganismos; sin embargo, esta disponibilidad está en función inversa a la concentración de sustancias solubles (sales, azúcares, etc.) en el medio acuoso.

El contenido de proteína fue de $18.2 \pm 0.04\%$ expresado en base húmeda. Este contenido es inferior al encontrado por Collazos *et al.* (1996) de 21.0%, sin embargo muy similar al hallado por Chau (2003) de 18.64%.

Con respecto a la grasa hallada en este estudio fue de $22.03 \pm 1.43\%$. Mientras que Chau (2003) obtuvo un 24.89% (b.h.), aun cuando en su formulación el contenido de grasa de cerdo fue de 11% de la cantidad total de carne más grasa. Lo cual indicaría que la carne empleada en este estudio tuvo un tenor normal de grasa, dado que el porcentaje de grasa fue de 24.5% del total de la masa.

El último componente mayoritario en el chorizo fresco es la ceniza, la cual presentó un valor de 2.32%. Este contenido es superior al encontrado por Chau (2003) de 1.5%; no obstante, inferior al expuesto por Collazos *et al.* (1996) de 3.8%.

4.2.2. CARGA MICROBIANA DEL CHORIZO FRESCO

En el Cuadro 18 se recogen los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos realizados en las muestras de chorizo fresco. Los recuentos medios de aerobios mesófilos no superaron las 6 unidades logarítmicas. Mientras que la detección de *Salmonella* sp. y el recuento de *Clostridium perfringens* salieron negativas en cada repetición de la muestra de chorizo. Sin embargo, los recuentos medios de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* superaron los criterios microbiológicos estipulados en la Norma Técnica Peruana 201.202 (INDECOPI, 1999).

Cuadro 18: Recuento microbiológico (Log₁₀ ufc/g) del chorizo fresco

Agente Microbiano	Recuento (Log ₁₀ ufc/g)
Aerobios mesófilos (30°C)	5.33 ± 0.05
<i>Escherichia coli</i>	3.12 ± 0.31
<i>Staphylococcus aureus</i> sp.	3.50 ± 0.23
<i>Clostridium perfringens</i>	0.0 ± 0.00
<i>Salmonella</i> sp.	Ausencia/ 25g ^a

^a Ausencia en las tres repeticiones.

El resultado de los recuentos de aerobios mesófilos fueron de 5.33 ± 0.05 Log₁₀ ufc/g para el chorizo fresco. Este valor está dentro del límite inferior del criterio microbiológico (MINSa, 2008) y de la Norma Técnica Peruana 201.012 (INDECOPI, 1999), las cuales establecen un máximo de 6 Log₁₀ ufc/g. Sin embargo, se pueden encontrar en carne picada valores de hasta 7.62 Log₁₀ ufc/g microorganismos viables totales incubados a 37°C (ICMSF, 1998).

El recuento de *Clostridium perfringens* y la detección de *Salmonella* sp. dieron resultados negativos, es decir no se encontraron indicios de crecimiento en el chorizo fresco. Es muy probable encontrar *Cl. perfringens* en muestras de carnes picadas recuentos menores a 50 ufc/g pero que pueden llegar a las 1000 ufc/g (ICMSF, 1998). Así mismo, la *Salmonella* sp. se encuentra muy poco en embutidos crudos y carnes picadas, con una incidencia de 1,2% (Roberts et al., 1980; citado por el ICMSF, 1998)

Los valores del recuento de *Escherichia coli* fueron de $3.12 \pm 0.31 \text{ Log}_{10} \text{ ufc/g}$, el cual superó al límite mayor del criterio microbiológico para embutidos frescos (MINSA, 2008) que es de $2.7 \text{ Log}_{10} \text{ ufc/g}$. El ICMSF menciona que en al menos 20 países se ha manifestado *E. coli* en la carne picada, y cuya incidencia puede llegar a ser del 63% de las muestras; el recuento de coliformes presuntivos puede llegar a ser desde 2.55 hasta $5.11 \text{ Log}_{10} \text{ ufc/g}$.

Así también se encontró que los recuentos de *Staphylococcus aureus* sp. ($3.50 \pm 0.23 \text{ Log}_{10} \text{ ufc/g}$) superaron las 3 unidades logarítmicas del criterio microbiológico (MINSA, 2008); así también, superan los $2 \text{ Log}_{10} \text{ ufc/g}$ estipulados en el NTP 201.012 (INDECOPI, 1999).

Como se observa tanto *Escherichia coli* (Gram negativo) como *Staphylococcus aureus* sp. (Gram positivo) son microorganismos que generan un problema de inocuidad en el chorizo fresco, puesto que no cumplen con los requisitos microbiológicos de las normas. Además, su incidencia es superior al de los otros microorganismos.

4.2.3. EFECTO DEL AJÍ PANCA SOBRE LAS CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DEL CHORIZO IRRADIADO A 10 KGRAY

Los recuentos iniciales de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en el chorizo sin inóculo fueron menor a la unidad en cada una de las concentraciones de ají Panca en polvo. Además, se observó que no hubo crecimiento de microorganismos durante el almacenamiento de 20 días. Por lo que se puede afirmar que no existen microorganismos capaces de producir competencia o injuria sobre las cepas posteriormente inoculadas en el chorizo experimental. Los recuentos de *E. coli* y *S. aureus* se encuentran en el Anexo 1.

El efecto sobre el pH durante el almacenamiento del chorizo, presentó diferencias significativas entre los días del seguimiento, entre las distintas concentraciones de ají Panca y en la interacción de estos dos factores. Sin embargo, el análisis de los efectos simples denota que solamente existen diferencias a distintos niveles de concentración de ají y que durante el almacenamiento, es decir en distintos días, el pH no varía significativamente (Ver Anexo 2).

Así también se observa que el pH del control se encuentra entre 5.75 y 5.78; a 0.5CMI, entre 5.43 y 5.51; a 1CMI, de 5.34 a 5.40 y a 2CMI, de 5.17 a 5.19. Por lo que a mayor concentración de ají Panca el valor del pH disminuye.

Los valores de humedad durante el almacenamiento del chorizo sin inóculo, presentaron diferencias significativas a distintas concentraciones de ají Panca. Sin embargo, el factor día no presentó significancia sobre la humedad. El análisis de los efectos simples denota que solamente existen diferencias entre los valores de humedad a distintos niveles de concentración de ají en el mismo día, manteniéndose casi constante con respecto al tiempo.

Las humedades en distintos días presentan valores entre 41.7 y 42.8%; a 0.5CMI, entre 46.3 y 48.5%; a 1CMI, de 48.6 a 49.6% y a 2CMI, de 55.4 a 55.7%. Por lo tanto, la humedad disminuye cuanto mayor es la concentración de ají Panca.

El seguimiento de la actividad de agua durante el almacenamiento, no presenta diferencias significativas con respecto a los días pero si entre las distintas concentraciones de ají. Esto es corroborado por el análisis de los efectos simples donde se visualizan diferencias a distintos niveles de concentración de ají en el mismo día, manteniéndose constante con respecto al tiempo (Ver Anexo 3).

Los valores de actividad de agua en los distintos días de seguimiento varían, escasamente, entre 0.976 y 0.984; a 0.5CMI, entre 0.975 y 0.979; a 1CMI, de 0.970 a 0.974 y a 2CMI, de 0.955 a 0.958. Por lo tanto, la actividad de agua disminuye cuando se incrementa la concentración de ají Panca.

4.2.4. EFECTO DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE CHORIZO FRESCO INOCULADO CON *E. COLI*

a. Efecto sobre la concentración microbiana de *Escherichia coli*

En la Figura 9 se muestran las cargas microbianas de la cepa *Escherichia coli* durante el almacenamiento del chorizo experimental, las cuales presentan diferencias

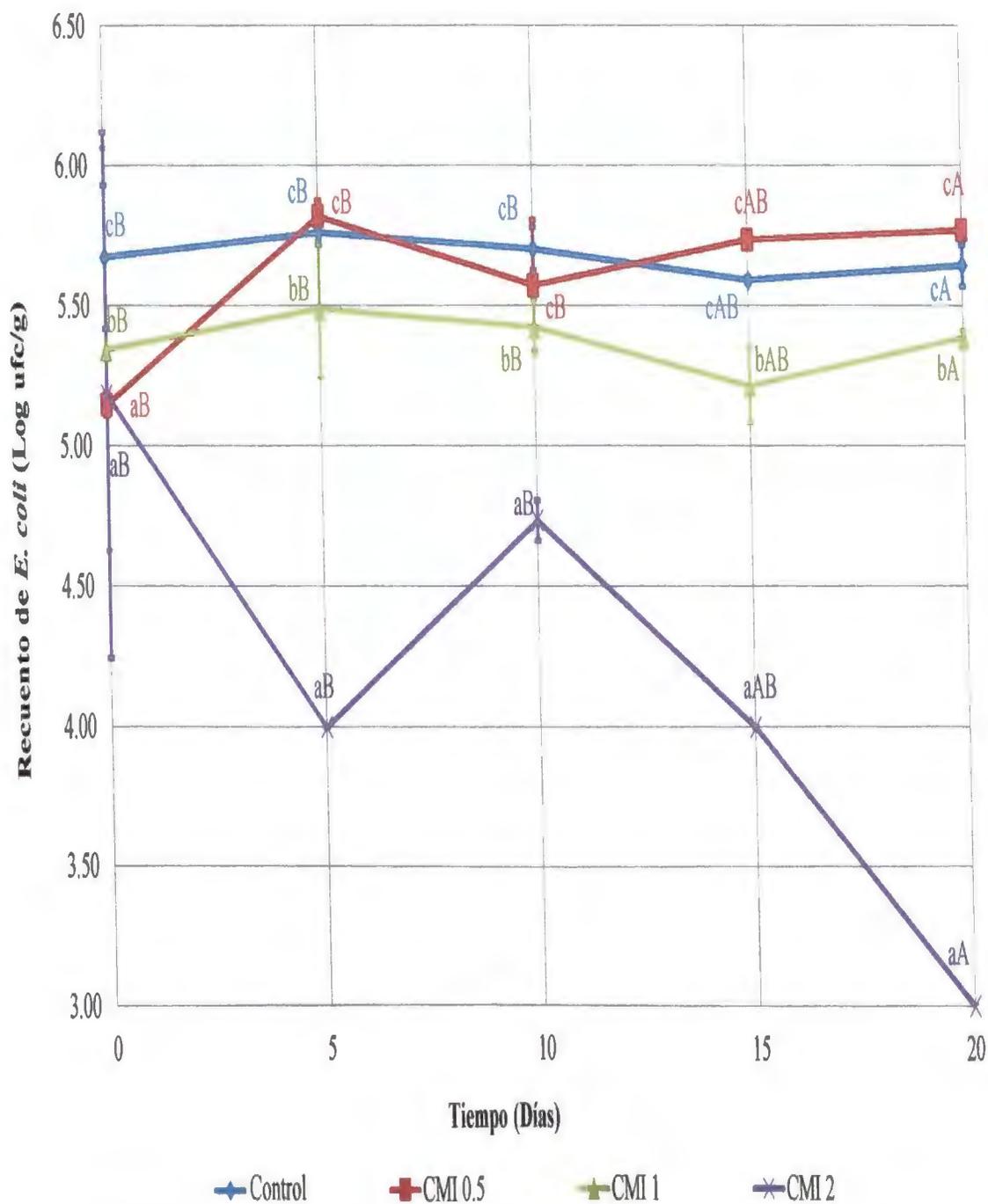


Figura 9: Efecto sobre el recuento microbiológico del chorizo inoculado con *Escherichia coli* (Log₁₀ ufc/g)

Así también se observa que el pH del control se encuentra entre 5.77 y 5.80, en distintos días; a 0.5CMI, entre 5.46 y 5.51; a 1CMI, de 5.32 a 5.39 y a 2CMI, de 5.14 a 5.19. Por lo tanto, a mayor concentración de ají Panca el valor del pH disminuye.

Los límites de pH para el crecimiento de *E. coli* varían desde 4.4 hasta 9.0. La tolerancia al pH de las distintas bacterias es muy relativas, incluso entre las G-negativas y positivas en algunos casos pueden ser apenas diferentes (ICMSF, 1998). Siendo el nivel de pH óptimo para el crecimiento de esta cepa entre 6 y 7. Por lo que, el pH en los chorizos experimentales podría ser un factor determinante de la inhibición durante el almacenamiento; sin embargo, el control no muestra inhibición a estas condiciones de pH.

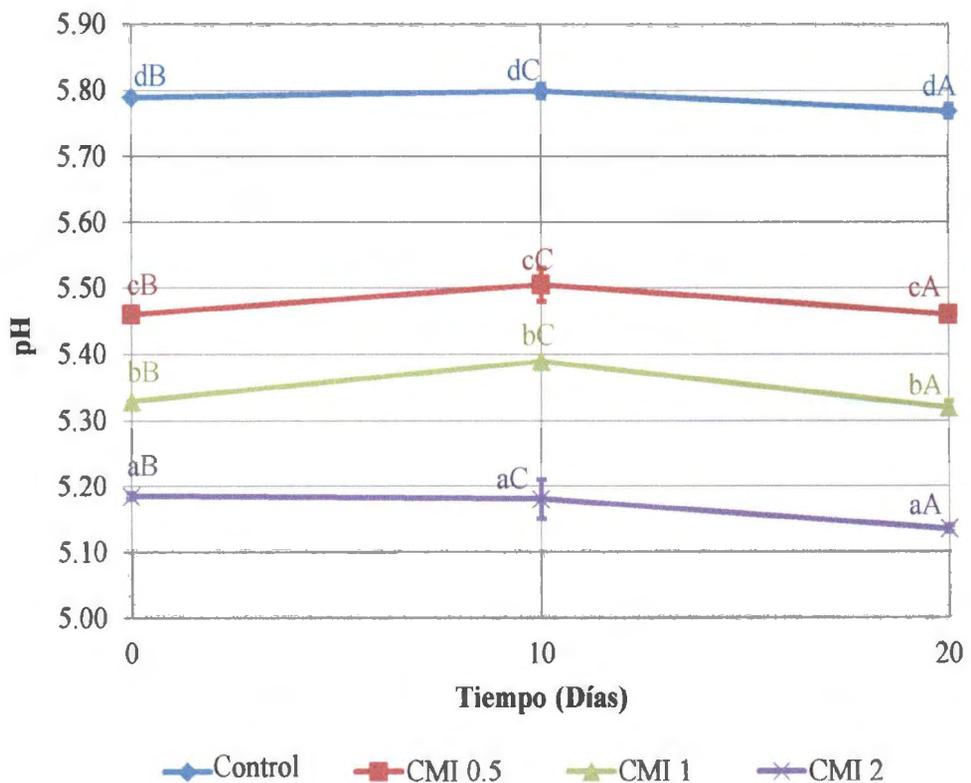


Figura 10: Efecto sobre el pH durante el almacenamiento del chorizo inoculado con *Escherichia coli*

c. Efecto sobre la humedad

En la Figura 11 se muestran los valores de humedad durante el almacenamiento del chorizo experimental, los cuales a distintas concentraciones de ají Panca presentaron

diferencias significativas. Sin embargo, el factor día no presentó significancia sobre la humedad. Por lo que se mantiene casi constante con respecto al tiempo.

Las humedades en distintos días presentan valores entre 39.7 y 41.5%; a 0.5CMI, entre 46.4 y 46.9%; a 1CMI, de 48.8 a 50.4% y a 2CMI, de 55.8 a 56.2%. Por lo tanto, la humedad disminuye cuanto mayor es la concentración de ají Panca.

d. Efecto sobre la actividad de agua

En la Figura 12 se muestran los valores de la actividad de agua durante el almacenamiento del chorizo inoculado con *Escherichia coli*, el cual presenta diferencias significativas con respecto a los días del seguimiento y entre las distintas concentraciones de ají Panca en polvo adicionado al chorizo experimental. Sin embargo, no existe efecto significativo del día sobre las concentraciones 0.5 CMI, 1 CMI y 2 CMI; es decir, se mantienen constantes durante el almacenamiento. Así también, en el día 10 el efecto de las concentraciones no produce un cambio en la actividad de agua del producto.

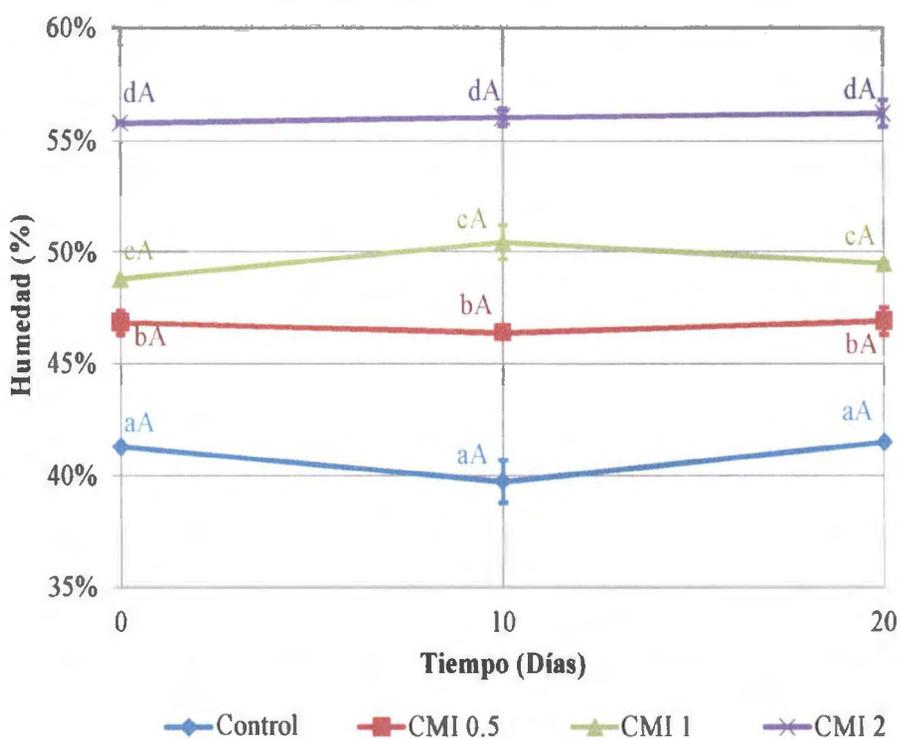


Figura 11: Efecto sobre la %Humedad durante el almacenamiento del chorizo inoculado con *Escherichia coli*

Los valores de actividad de agua en los distintos días de seguimiento varían, escasamente, entre 0.983 y 0.987; a 0.5CMI, entre 0.976 y 0.981; a 1CMI, de 0.967 a 0.974 y a 2CMI, de 0.947 a 0.959. Por lo tanto, la actividad de agua disminuye cuando se incrementa la concentración de aji Panca.

Las *Enterobacteriaceae* habitualmente proliferan sólo a actividad de agua superiores a 0.93 (ICMSF, 1998). *E. coli* es capaz de crecer con una actividad de agua de 0.95 como mínimo siendo el óptimo de 0.995 (Elika, 2013). Por lo que, el nivel de pH podría influir en el crecimiento de esta cepa, no obstante el control no se reportó reducción de carga microbiana en el control a una misma actividad de agua.

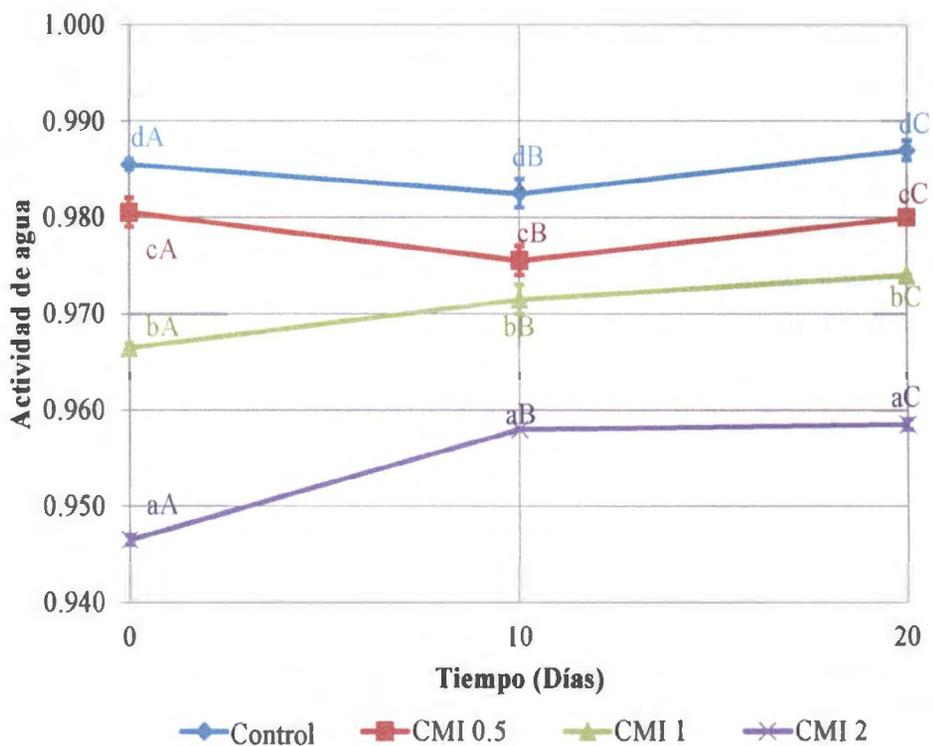


Figura 12: Efecto sobre la actividad de agua durante el almacenamiento del chorizo inoculado con *Escherichia coli*

4.2.5. EFECTO DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE CHORIZO FRESCO INOCULADO CON *S. AUREUS*

a. Efecto sobre recuento de *Staphylococcus aureus*

En la Figura 13 se muestra la cinética de crecimiento de la cepa *Staphylococcus aureus* durante el almacenamiento del chorizo experimental, la cual presenta diferencias significativas con respecto a la concentración de ají Panca y al día de recuento, así como en la interacción de estos factores. El análisis estadístico de los efectos simples indica que el efecto de los días en las concentraciones 0.5 y 1 de CMI sobre la carga microbiana no es significativa, es decir no varía significativamente durante los 20 días a estas concentraciones de ají.

Así, la carga microbiana de *Staphylococcus aureus* casi no varía en las concentraciones menores e iguales a la CMI, sin embargo a una concentración de 2CMI, equivalente a 31% de ají Panca, la capacidad inhibitoria es muy superior llegando a reducir la carga inicial de 5.37 a 2.81 Log₁₀ ufc/g, igual a 2.6 logaritmos. El criterio microbiológico para este tipo de producto (MINSA, 2008) estipula que el recuento de *Staphylococcus aureus* debe encontrarse por debajo de las 3 unidades logarítmicas.

La disminución de la carga microbiana de *Staphylococcus aureus* es mayor que la hallada sobre *Escherichia coli*. Por lo tanto, en la matriz cárnica el microorganismo Gram positivo presentó mayor vulnerabilidad que negativo. Esto fue corroborado *in vitro*. Además, Arias (2003, citado por Monroy *et al.*, 2009) afirma que la presencia de los compuestos polifenólicos no polares, los cuales también se encuentran en el ají Panca, afectan en mayor medida a las bacterias G-positivas (*S. aureus*) que a las negativas (*E. coli*).

b. Efecto sobre el pH

En la Figura 14 se muestran los valores de pH durante el almacenamiento del chorizo *Staphylococcus aureus*, estos presentaron diferencias significativas con respecto a los días del seguimiento, a las distintas concentraciones de ají Panca en polvo adicionado al chorizo base y a su interacción. Sin embargo, el análisis de los efectos simples

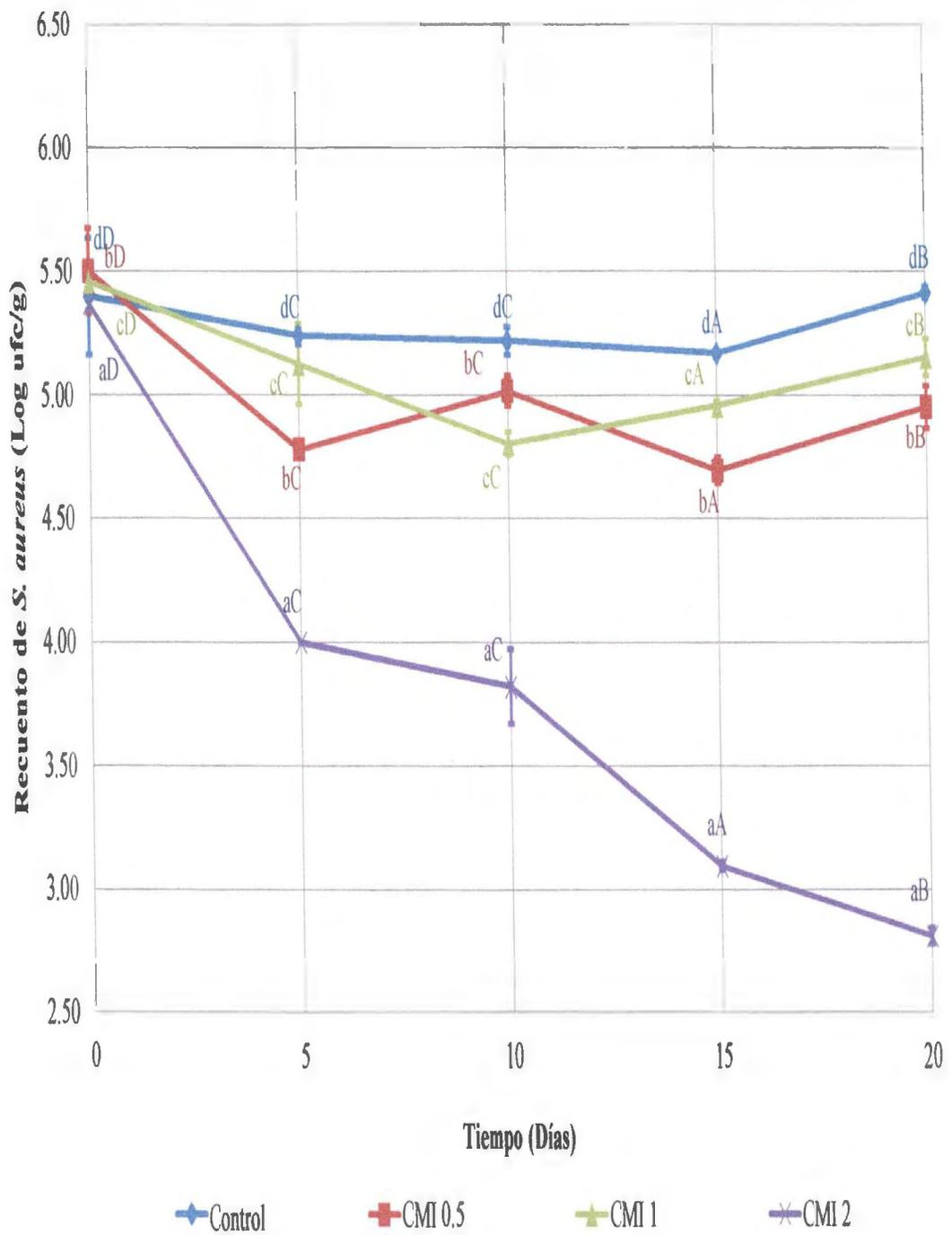


Figura 13: Efecto sobre el recuento microbiológico del chorizo inoculado con *Staphylococcus aureus* (Log₁₀ ufc/g)

denota que solamente existen diferencias entre los valores de pH a distintos niveles de concentración de ají pero no así entre los días de almacenamiento.

Así también se observa que en distintos días el pH del control se encontraba entre 5.77 y 5.78; a 0.5CMI, entre 5.47 y 5.50; a 1CMI, de 5.32 a 5.36 y a 2CMI, de 5.14 a 5.18. Por lo que a mayor concentración de ají Panca el valor del pH disminuye.

Según la ICMSF (1998), bajo condiciones óptimas, el *S. aureus* es capaz de crecer a un pH de 4.3 con un ácido inorgánico. Sin embargo, en presencia de ácidos orgánicos, los límites de crecimiento son mucho más elevados.

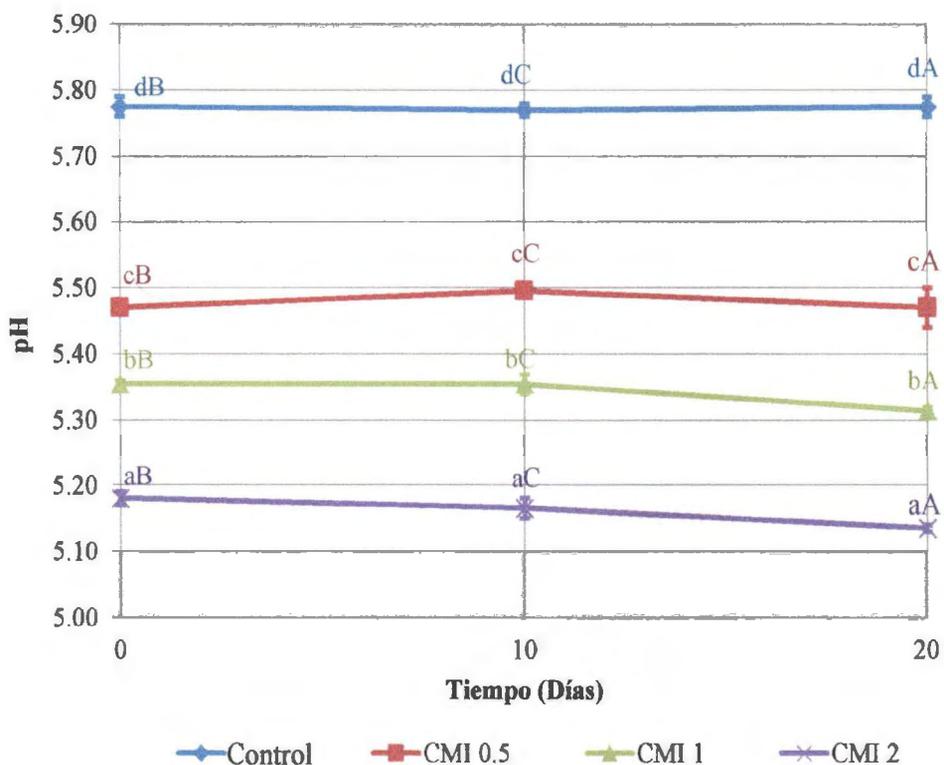


Figura 14: Efecto sobre el pH durante el almacenamiento del chorizo inoculado con *Staphylococcus aureus*

c. Efecto sobre la humedad

Como se observa en la Figura 15 se muestran los valores de humedad durante el almacenamiento del chorizo *S. aureus*, los cuales a distintas concentraciones de ají Panca

presentaron diferencias significativas. Sin embargo, el factor día no presentó significancia sobre la humedad.

Las humedades en distintos días presentan valores entre 42.0 y 42.7%; a 0.5CMI, entre 45.5 y 46.2%; a 1CMI, de 48.1 a 48.7% y a 2CMI, de 55.0 a 56.3%. Por lo tanto, la humedad disminuye cuanto mayor es la concentración de ají Panca.

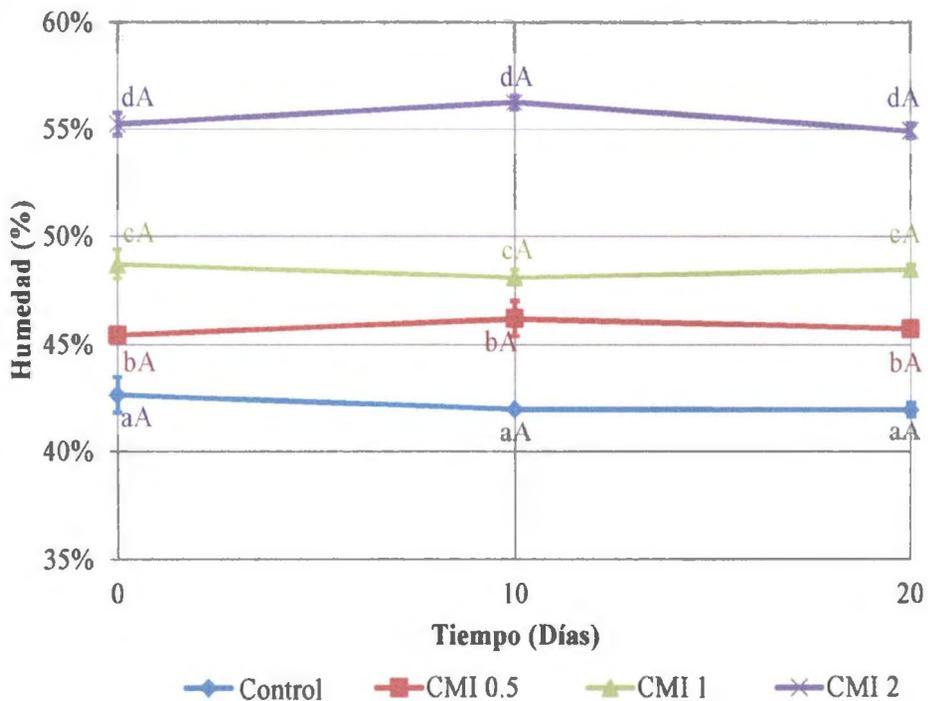


Figura 15: Efecto sobre la %Humedad durante el almacenamiento del chorizo inoculado con *Staphylococcus aureus*

d. Efecto sobre la actividad de agua

En la Figura 16 se muestran los valores de la actividad de agua durante el almacenamiento del chorizo inoculado con *Staphylococcus aureus*, el cual presenta diferencias significativas con respecto a los días del seguimiento, a las distintas concentraciones de ají Panca en polvo y a la interacción de estos factores. Sin embargo, no existe efecto significativo del día sobre las concentraciones 0.5 CMI, 1 CMI y 2 CMI; es decir, se mantienen constantes durante el almacenamiento. Así también, en el día 0 el efecto de las concentraciones tuvo efecto sobre la Aw.

Los valores de actividad de agua en los distintos días de seguimiento fluctúan entre 0.974 y 0.981; a 0.5CMI, entre 0.969 y 0.981; a 1CMI, de 0.965 a 0.973 y a 2CMI, de 0.955 a 0.959. Por lo que se puede afirmar, la actividad de agua del chorizo experimental disminuye cuando se incrementa la concentración de ají Panca.

Con respecto a la actividad de agua *S. aureus* es capaz de crecer en condiciones tan bajas como 0.85 (en condiciones salinas); sin embargo, con otros humectantes, el crecimiento con frecuencia es más limitado a una actividad de agua más elevada. La producción de toxina tiene lugar a un nivel de actividad de agua mayor que el crecimiento, 0.93 (ICMSF, 1998). Por lo tanto, la actividad de agua durante el almacenamiento no es un factor inhibitor o limitante para el crecimiento de la bacteria en estudio.

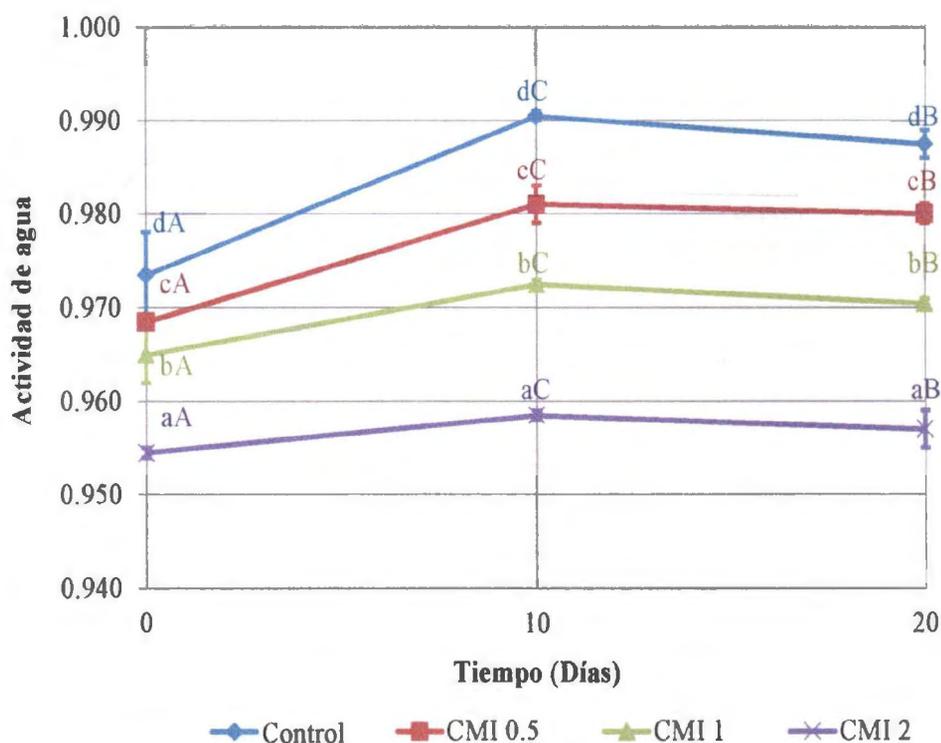


Figura 16: Efecto sobre la actividad de agua durante el almacenamiento del chorizo inoculado con *Staphylococcus aureus*

V. CONCLUSIONES

- La concentración mínima inhibitoria por microdilución del ají Panca sobre *Escherichia coli* fue de 4.82 mg/ml de solución y para el *Staphylococcus aureus* de 5.61 mg/ml de solución.
- La adición de ají Panca en polvo en el chorizo a un concentración equivalente a 0.5 y 1 veces la CMI en el chorizo fresco no presentan diferencias con respecto al control sobre el recuento *E. coli* y *S. aureus*
- La adición de dos veces la CMI o 31% de ají Panca en polvo en el chorizo experimental permite reducir el crecimiento de *Escherichia coli* en 2.18 logaritmos y en 2.56 log ufc/g el de *Staphylococcus aureus*.
- El pH, la humedad y la actividad de agua de los chorizos experimentales se mantuvieron constantes durante el almacenamiento, y no presentaron un efecto alguno sobre las bacterias en estudio.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda utilizar un blanco positivo con capsaicina para comparar el crecimiento de microbiano en la determinación de la concentración mínima inhibitoria.
- Cuantificar el contenido de compuestos polifenólicos y flavonoides en el *Capsicum* que presentan actividad antimicrobiana, y usarlos como blancos positivos del extracto de ají Panca.
- Evaluar el efecto del ají Panca como inhibidor de flora bacteriana inicial de un producto crudo sin irradiar.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ACERO O., C.; DORANTES, L.; HERNANDEZ S., H.; TAPIA, M.S.; GUTIERREZ L., G.; ALZAMORA, S. y LOPEZ M.; A. 2005. Response surface analysis of the effects of Capsicum extract, temperature and pH on the growth and inactivation of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Engineering* 67: 247–252
- ALVARADO, J. y AGUILERA J. 2001. Métodos para medir propiedades físicas en industrias de alimentos. Editorial Acribia, S.A. España.
- ALVAREZ H, M.A.; CASTILLO C., O.M. y CASTILLO V., G.A. 1997. Estudio de pre-factibilidad para la instalación de una planta deshidratadora de Ají Panca (*Capsicum frutescens*). Tesis. Industrias Alimentarias. UNALM. Perú.
- ALVISTUR T., R.A. 1975. Estudio de deshidratación del Ají: Panca (*Capsicum sinense*), Mirasol y Escabeche (*Capsicum pendulum*). Ing. Tesis. Industrias Alimentarias. UNALM. Perú.
- ANDREWS, W.H.; JACOBSON, A. y HAMMACK, T. 2011. *Salmonella*. Bacteriological Analytical Manual. Chapter 5. Food and Drug Administration. FDA. USA.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 16th Edition. Association of Official Analytical Chemists. Editado por M.P. Bueno. USA.
- APEGA (Asociación Peruana de Gastronomía); UNALM (Universidad Nacional Agraria La Molina); INIA (Instituto de Investigación Agraria); El Huerto; USMP (Universidad San Martín de Porres). 2009. Ajíes Peruanos. Sazón para el mundo. Ministerio de Agricultura. Perú.
- BASURTO B., H.M. 2001. Determinación de la dosis de reducción decimal (D_{10}) y dosis óptima para la eliminación de *Salmonella typhimurium* en hamburguesa de pollo mediante radiación gamma ^{60}CO . Tesis. Industrias Alimentarias. UNALM. Perú.
- BENNETT, R.W. y LANCETTE, G.A. 2001. *Staphylococcus aureus*. Bacteriological Analytical Manual. Food and Drug Administration. FDA. USA.

- BOSLAND, P.W. 1996. *Capsicums: Innovative uses of an ancient crop*. J. Janick (ed.). Progres in new crops. ASHS Press. USA.
- BOURGEOIS, C.M.; MESCLE, J.F. y ZUCCA, J. 1994. *Microbiología alimentaria*. Volumen 1. Aspectos microbiológicos de la seguridad y calidad alimentaria. Editorial Acribia S.A. España.
- BRAVERMAN, J.B.S. 1980. *Introducción a la bioquímica de alimentos*. Editorial El Manual Moderno. México.
- BUSATTA, C; MOSSI, A.J.; ALVES R., M.R.; CANSIAN, R.L. y De OLVIDEIRA, J. 2007. Evaluation of *Origanum vulgare* essential oil as antimicrobial agent in sausage. *Brazilian Journal of Microbiology* 38: 610-616.
- CANO M., T.M.; CHAVEZ Q., B.L.; GODINEZ L., J.E. y MONZON L., D.E. 2002. Obtención y caracterización del aceite esencial y oleoresina de la pimienta negra (*Piper nigrum L.*) cultivada en Guatemala. Una alternativa de desarrollo agroindustrial para el agricultor guatemalteco. Programa de Investigación en Desarrollo Industrial. Facultad de Ingeniería. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
- CAREAGA, M., FERNANDEZ, E., DORANTES, L., MOTA, L.; JARAMILLO, M.A.y HERNANDEZ S., H. 2003. Antibacterial activity of *Capsicum* extract against *Salmonella typhimurium* and *Pseudomonas aeruginosa* inoculated in raw beef meat. *International Journal of Food Microbiology* 83: 331– 335.
- CARO M., M.L. 1987. Extracción de la oleoresina del ají escabeche (*Capsicum pendulum*). Tesis. Industrias Alimentarias. UNALM. Perú.
- CELIS C., A. 2005. Obtención de capsaicina a partir de chile jalapeño e ingeniería de proceso de extracción. Tesis. Ingeniería Química y Alimentos. Escuela de Ingeniería. Universidad de las Américas Puebla. México.
- CETZ L., J. 2005. Micropropagación de chile dulce (*Capsicum annum L.* var. Najera) y chile habanero (*Capsicum chinense Jacq.*) con miras al mejoramiento genético del cultivo. Tesis. Programa de Educación para el Desarrollo y la Conservación. Escuela de Posgrado. Centro Agronómico tropical de Investigación y Enseñanza CATIE. Turrialba. Costa Rica.

- CHAU A., A.V. 2003. Utilización del método escalonado y la distribución de Weibull para la determinación de la vida en anaquel del chorizo parrillero. Tesis. Programa de Maestría en Tecnología de Alimentos. Escuela de Posgrado. UNALM. Perú.
- CICHEWICZ, R.H. y THORPE, P.A. 1996. The antimicrobial properties of chile peppers (*Capsicum* species) and their uses in Mayan medicine. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. 52, Issue 2. Pages 61-70.
- COLIVET, J.; BELLOSO, G. y HURTADO, E. 2006. Comparación del efecto inhibitor de extractos de ají dulce (*Capsicum chinense*) sobre el crecimiento de *Escherichia coli* y *Bacillus sp.* *Saber*. Universidad de Oriente. Venezuela. Vol. 18. N°2: 168-173.
- COLLAZOS, C.; WHITE P.; WHITE H.; VIÑAS, E.; ALVISTAN, E.; URQUIETA, R.; VÁSQUEZ, S.; DÍAZ, C.; QUIROZ, A.; ROCE, A.; HENGSTED, D.; BRODFIELD, R.; HERRERA, N.; FACHING, A.; ROULES, N.; HERNÁNDEZ, E y ARIES, M. 1996. Tablas peruanas de composición de alimentos. Ministerio de Salud. Instituto Nacional de Salud y Centro Nacional de Alimentación y Nutrición. Perú.
- COLLINS, M.D.; MAYER W., L. y BOSLAND, P.W. 1995. Improved method for quantifying capsaicinoides in *Capsicum* using high-performance liquid chromatography. *HortScience* 30 (1): 137-139.
- CORETTI, K. 1971. Embutidos: Elaboración y defectos. Editorial Acribia S.A. España.
- DAGHERO, J.D. y MATTEA, M.A. 2000. Obtención de oleoresina de ajo (*Allium sativum*) por extracción con etanol. *Anales de SAIPA - Sociedad Argentina para la Investigación de Productos Aromáticos*. IX Congreso Nacional de Recursos Naturales Aromáticos y Medicinales. Volumen XVI: 105-108.
- DEEPA, N.; CHARANJIT, K.; BINOY, G.; BALRAJ, S. y KAPOOR, H.C. 2005. Antioxidant constituents in some sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes during maturity. *Elsevier. LWT* 40: 121- 129.
- DOS SANTOS E., A.J. 2007. Estudio del comportamiento cinético de microorganismos de interés en seguridad alimentaria con modelos matemáticos. Tesis. Ciencia animal y de los alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona. España.

- ELIKA. Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria. 2013. *Escherichia coli*. Disponible en: http://www.elika.net/datos/pdfs_agrupados/Documento84/3.Ecoli.pdf. Revisado el 28 de abril del 2014.
- FDA/BAM (Food and Drugs Administration/ Bacteriological Analytical Manual). 2012. Guidance for Industry: Testing for Salmonella Species in Human Foods and Direct-Human-Contact Animal Food. USA.
- FENG, P.; WEAGANT, S.D.; GRANT, M.A. y BUCKHARDT, W. 2002. Enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria. Bacteriological Analytical Manual. Chapter 4. Food and Drug Administration. FDA. USA.
- FENNEMA, O.R. 2000. Química de los alimentos. Segunda edición. Editorial Acribia S.A. España.
- FERNANDEZ B., G. 2007. Extracción, análisis, estabilidad y síntesis de capsaicinoides. Tesis doctoral. Dpto. de Química Analítica. Facultad de Ciencias. Universidad de Cádiz. España.
- FERNANDEZ T., J.P. 2007. Extracción convencional de oleoresina de pimentón dulce y picante. Generalidad, composición, proceso e innovaciones y aplicaciones. Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT). España. Revista Grasas y Aceites, 58(3): 252-263.
- FORREST, J. 1979. Fundamentos de la ciencia de la carne. Editorial Acribia S.A. España
- FREY, W. 1995. Fabricación fiable de embutidos. Editorial Acribia S.A. España.
- FSIS/USDA (Food Safety and Inspection Service/ United States Department of Agriculture). 2013. *Salmonella* Preguntas y Respuestas. Información sobre la Inocuidad de Alimentos. USA.
- GAMAZO, C.; LOPEZ G., I. y DIAZ, R. 2005. Manual de Microbiología. 3ª Edición. Editorial Masson S.A. España.
- GARCÉS C., A. 2007. Estudio de los componentes del carácter picante en pimiento (*Capsicum* sp.): Técnicas de evaluación, análisis genético y molecular. Tesis Doctoral. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria (CTIA). Unidad de Tecnología de Producción Vegetal. Universidad de Zaragoza. España.

- GARCÍA R., J.A.; CANTÓN, R.; SANCHEZ, J.E.; GOMEZ-LUS, M.L.; MARTINEZ M., L.; RODRIGUEZ-VIAL, C. y VILA, J. 2000. Procedimientos de microbiología clínica. Capítulo 11: Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. España.
- GARCÍA R., J.A.; CANTÓN, R.; SANCHEZ, J.E.; GOMEZ-LUS, M.L.; MARTINEZ M., L.; RODRIGUEZ-VIAL, C. y VILA, J. 2000. Procedimientos de microbiología clínica. Capítulo 12: Métodos especiales para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. España.
- GARCÍA Y., A.I. 2011. Estudio de mercado de variedades sub-utilizadas de ajíes nativos (*Capsicum* spp.) en el Perú dentro del marco del proyecto internacional financiado por la cooperación alemana “Descubriendo el Potencial de la Diversidad de los Cultivos Olvidados para la Diferenciación de Productos de Alto Valor y la Generación de Ingresos para los Pobres: El Caso del *Capsicum* en su Centro de Origen”. Tesis. Programa de Maestría en Marketing. Escuela de Postgrado. Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas. Perú.
- GIBBS A., H.A. y O'GARRO W., L. 2004. Capsaicin content of West Indies hot pepper cultivars using colorimetric and chromatographic techniques. Department of Biological and Chemical Sciences. Cave Hill Campus. University of the West Indies. Barbados. HortScience 39(1): 132-135.
- GIRARD, J.P. 1992. Tecnología de la carne y los productos cárnicos. Editorial Acribia S.A. España.
- GONZALES, A.; ESPINOZA E., A.; CAÑIZARES C., A.E. y MÉNDEZ N., J.R. 2008. Obtención de un polvo de ají dulce (*Capsicum chinense*) producido mediante deshidratación por aire forzado. Universidad de Oriente. Venezuela. Revista Científica UDO Agrícola 8 (1): 118 – 126.
- GRANADOS P., R. H y VILLAVARDE P., M.C. 2003. International Thomson Editores Spain. Editorial Paraninfo S.A. España.
- HAYES, P.R. 1993. Microbiología e Higiene de los Alimentos. Editorial Acribia. España.

- HERNANDEZ P., L.C. 2003. Actividad inhibitoria y letal de los extractos de ají para *E. coli* y *L. innocua*. Lic. Tesis. Puebla, México. Universidad de las Américas Puebla. México.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). 2000. Microbiología de Alimentos 1: Significado y método de elaboración. 2º Edición. Editorial Acribia S.A. España.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). 1998. Microorganismos de los Alimentos 6: Ecología microbiana de los productos alimentarios. Editorial Acribia S.A. España.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). 2001. Microorganismos de los Alimentos 6: Ecología microbiana de los productos alimentarios. Editorial Acribia S.A. España.
- INDECOPI (Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de La Protección de la Propiedad Intelectual). 1999. Norma Técnica Peruana 201.012. 2º Edición. Carne y Productos cárnicos. Embutidos crudos. Definiciones, clasificación y requisitos. Comisión de Reglamentos Técnicos y Comerciales. Perú.
- INDECOPI (Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de La Protección de la Propiedad Intelectual). 2005. Norma Técnica Peruana-ISO 2917:2005. 2º Edición. Carne y productos cárnicos. Medición de pH. Método de referencia. Perú.
- INDECOPI (Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de La Protección de la Propiedad Intelectual). 2006. Norma Técnica Peruana-ISO 1442:2006. Carne y productos cárnicos. Determinación del contenido de humedad. Método de referencia. Perú.
- INDECOPI (Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de La Protección de la Propiedad Intelectual). 2002. Norma Técnica Peruana 201.016:2002. Carne y productos cárnicos. Determinación del contenido de grasa total. Perú.
- INDECOPI (Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de La Protección de la Propiedad Intelectual). 2002. Norma Técnica Peruana 201.021:2002. Carne y productos cárnicos. Determinación del contenido de proteínas. Perú.

- INDECOPI (Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de La Protección de la Propiedad Intelectual). 2002. Norma Técnica Peruana 201.022:2002. Carne y productos cárnicos. Determinación del contenido de cenizas. Perú.
- INDECOPI (Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de La Protección de la Propiedad Intelectual).1999. Norma Técnica Peruana 201.012: 1999. Carne y productos cárnicos. Embutidos crudos. Definiciones, clasificación y requisitos. Perú.
- JAY, J.M. 1978. Microbiología moderna de los alimentos. 2º Edición Española. Editorial Acribia S.A. España.
- JAY, J.M., LOESSNER, M.J. y GOLDEN, D.A. 2009. Microbiología moderna de los alimentos. 2º Edición Española. Editorial Acribia S.A. España.
- JEFFERY R., E. y HARMON, S.M. 2001. *Clostridium perfringens*. Bacteriological Analytical Manual. Food and Drug Administration. USA.
- KAYA, E.G.; OZBILGE, H. y KAYSERI, S. 2009. Determination of the effect of gentamicin against *Staphylococcus aureus* by using microbroth kinetic system. ANKEM Derg 2009; 23 (3): 110-114. Turkia.
- KOO, W. 2013. Ají Cayena, ají Habanero, ají Tabasco, ají varios, Perú Exportación Mayo 2013. Disponible en: agodataperu.com. Revisado el 23 de junio del 2013.
- LAMBERT, R.J.W. y PEARSON, J. 2000. Susceptibility testing: accurate and reproducible minimum inhibitory concentration (MIC) and non-inhibitory concentration (NIC) values. Journal of Applied Microbiology, 88: 784-790.
- LAWRIE, R.A. 1998. Ciencia de la carne. Editorial Acribia S.A. España.
- LOO-KUNG A., M.A. y VICUÑA V., M. 2003. Propuesta de plan de higiene para la planta de producción de la empresa Don José S.A. y un plan HACCP para el producto chorizo parrillero. Tesina. Industrias Alimentarias. UNALM. Perú.
- LOPEZ H., F.E.; LOBATO G., C.E.; GOMEZ R., A.; ROMERO C., N. y SCOBAR R., A. 2011. Extracción y cuantificación espectrofotométrica de capsaicina a partir de chile habanero. Memorias de la semana de Divulgación y Video Científico 2011. División Académica de Ciencias Básicas. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

- LOPEZ R., G.O. 2003. Chilli: La especia del Nuevo Mundo. Facultad de Ciencia, Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- MARTINEZ G., A.A. 2007. Obtención de oleoresina *Capsicum* a partir de chiles jalapeños frescos enteros. Tesis. Ingeniería Química y Alimentos. Escuela de Ingeniería y Ciencias. Universidad de las Américas Puebla. México.
- MATEO, J.; RAMOS, D.D.; PRIETO, B.; SALVÁ, B.K.; OLAYA, S.; FERNÁNDEZ, D.; CARO, I.; ROMERO, M. y GONZÁLES, E.A. 2009. Manual de elaboración de preparados cárnicos en el Departamento de Tumbes. Editado por: Gonzales, E. Perú.
- MATURIN, L. y PEELER, J.T. 2001. Aerobic plate count. Bacteriological Analytical Manual. Chapter 3. Food and Drug Administration. FDA. USA.
- MINSA (Ministerio de Salud). 2008. Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. R.M.N°591-2008/MINSA. NTS N°071 – MINSA/DIGESA – V.01. Perú.
- MONROY V., A.; GARCIA M., I. y TOTOSAUS, A. 2009. Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos etanólicos de romero y chile ancho y su aplicación en un batido cárnico. Nacameh: Difusión vía red de computo semestral sobre avances en ciencia y tecnología de la carne, UAM. Volumen 3, Número 1. México.
- MONTOYA, J.; MUÑOZ M. y ALEJANDRO D. 2002. Condiciones de operación de un proceso para extraer oleoresina del ají antioqueño. Universidad EAFIT. Colombia.
- MONTVILLE, T.J. y MATTHEWS, K.R. 2009. Microbiología de los alimentos. Introducción. Editorial Acribia S.A. España.
- NCCLS (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2006. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically; Approved standard. Seventh Edition. M7-A7. Vol. 26 No 2.
- NCCLS (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2006. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test; Approved standard. Ninth Edition. M2-A9. Vol. 26 No 1.

- ODOEMENA, C.S.; AKPABIO, K.E. y NNEJI, C.P. 1998. Antibacterial activity of essential oils from four selected varieties of *Capsicum annum*. Department of Botany and Microbiology. University of Uyo. Nigeria. Journal of Natutal Products and Medicine. Volume 02.
- ORTEZ, J.H.; CAVALIERI, S.J.; RANKIN, I.D.; HARBECK, R.J.; SAUTTER, R.L.; MCCARTER, Y.S.; SHARP, S.E. y SPIEGEL, C.A. 2005. Manual de pruebas de susceptibilidad microbiana. Edit. Coyle M.B. International Microbiology Education Committee (IMEC). USA.
- PAITA R., E.T. y GUEVARA P., A. 2002. Efecto del escaldado y temperatura de deshidratación en la retención de color y picantez del rocoto (*Capsicum pubescens*, r. y p.) verde en polvo. Anales científicos UNA. Volumen LIII. Editorial Ediagraria. Perú.
- PALTRINIERI, G. 1983. Taller de carne. Manuales de educación agropecuaria. Área de Industrias Rurales. Editorial Trillas. México.
- PASCUAL A., M.R. y CALDERON P., V. 2000. Microbiología Alimentaria. Metodología Analítica para alimentos y bebidas. 2º Edición. Editorial Díaz de Santos. España.
- PINO, J.; FUENTES, V. y BARRIOS, O. 2011. Volatile constituents of Cachucha peppers (*Capsicum chinense* Jacq.) grown in Cuba. Food Chemistry 125: 860–864.
- PISTIVSEK, B. 2005. Antimikrobno delovanje ekstrakta paprike (*Capsicum annum* L.). Študij mikrobiologije. Seminarska naloga, Biotehniška fakulteta, Univerza V Ljubljani. Republika Slovenija.
- PRANDL, O.; FISCHER, A.; SCHIMIDHOFER, T. y SINELL, H. 1994. Tecnología e higiene de la carne. Editorial Acribia S.A. España.
- PRABUSEENIVASAN, S., JAYAKUMAR, M. y IGNACIMUTHU, S. 2006. *In vitro* antibacterial activity of some plant essential oils. Entomology Research Institute, Loyola College, Chennai. India.
- QUIGLEY, T. 2008. Monitoring the growth of *E. coli* with light scattering using the synergy™ 4 Multi-mode microplate reader with hybrid technology™. Applications specialist, Applications Dept., Bio Tek instrument. USA.

- RAVISHANKAR S., B.E. 1997. Supercritical fluid extraction of capsaicin from peppers. Degree of Doctor of Philosophy. Chemical Engineering Department. Texas Tech University. USA.
- RAY, B. y BRUNIA, A. 2010. Fundamentos de microbiología de los Alimentos. 4^o Edición. McGraw Hill Interamericana Editores S.A. de C.V. México.
- RODRIGUEZ, L.; ARANGO, J. y URREGO, F. 2000. Obtención de Oleorresinas a partir de tres especies de *Capsicum sp.* Cultivadas en Colombia (*Capsicum annum*, *Capsicum frutescens*, *Capsicum chinense*). Universidad Jorge Tadeo Lozano. Colombia.
- ROSAS D.P., C.R. y VASSALLO E., G.C. 2010. Elaboración de un Plan HACCP y procedimiento para la línea de producción de ají Panca deshidratado en polvo en la empresa Fructus Terrum S.A. Tesina. Industrias Alimentarias. UNALM. Perú.
- SALAMANCA G., M.A. y SANCHEZ B., M.Y. 2009. Extracción y caracterización de la oleorresina del orégano (*Origanum vulgare*). Tesis. Facultad de Tecnología. Universidad Tecnológica de Pereira. Colombia.
- SALLAM, K.I.; ISHIOROSHI, M. y SAMEJIMA, K. 2004. Antioxidant and antimicrobial effect of garlic in chicken sausage. Lebensm.-Wiss. u-Technol. 37: 849-855.
- SCHIFFNER, E.; OPPEL, K. y LORTZING, D. 1996. Elaboración casera de carne y embutidos. Editorial Acribia S.A. España.
- SIKORSKI Z.E. 2002. Chemical and functional properties of food components. Second Edition. CRC Press LLC. U.S.A.
- SUKRASNO, E. 1997. Antimicrobial activities of the ethanol extracts of *Capsicum* fruits with different levels of pungency. Institut Teknologi Bandung. Indonesia. JMS Vol. 2 No. 2: 57 – 63
- TELLEZ V., J.G. 1978. Manual de industrias cárnicas. Trozado de carnes, embutidos y salchichas. UNALM. Perú.
- TOPUZ, A. y OZDEMIR, F. 2007. Assessment of carotenoids, capsaicinoids and ascorbic acid composition of some selected pepper cultivars (*Capsicum annum* L.) grown in Turkey. Journal of Food Composition and Analysis 20: 596–602.

- TOVAR R., A. 2003. Guía de procesos para la elaboración de productos cárnicos. Convenio Andrés Bello, Ciencia y Tecnología No. 121. Colombia.
- TSUCHIYA, H. 2001. Biphasic membrane effects of capsaicin, an active component in *Capsicum* species. *Journal of Ethnopharmacol*; 75 (2-3): 295-9.
- VARNAM, A. y SUTHERLAND, J. 1998. Carne y productos cárnicos. Tecnología, química y microbiología. Editorial Acribia S.A. España.
- WAHYUNI, Y.; BALLESTER, S.R.; SUDARMONOWATI, E.; BINO, R.J. y BOVY, A.G. 2011. Metabolite biodiversity in pepper (*Capsicum*) fruit of thirty-two diverse accessions: Variation in health-related compounds and implications for breeding. The Netherlands. *Phytochemistry* 7: 1358-1370.
- WITRH, F.; LEISTNER, L. y RODEL, W. 1981. Valores normativos de la tecnología cárnica. Editorial Acribia S.A. España.
- YANG., H-W.; AI, L. y LUO Q-J. 2009. Bacteriostasis *in vitro* of *Capsicum*, Garlic and Several Herbs. Abstract. China. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research. 2009-09. Disponible en: http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTotal-SZGY200909051.htm. Consultado el 13 de marzo del 2013.
- ZAMORA R., R.E. 1989. Obtención y Caracterización de Oleoresina a partir de Pimienta negra (*Piper nigrum* L.). Tesis. Industrias Alimentarias. UNALM. Perú.
- ZHANG, J.H.; TAO, N.G; LI, J.L.; LIU, Y.X. y LI, X.N. 2010. Extraction of capsaicin and its anti-microbial activity. Abstract. China. Guihaia. 2010-0. Disponible en: http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-GXZW201001025.htm. Consultado el 13 de marzo del 2013.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: Efecto microbiológico del chorizo Sin Inóculo (Log_{10} ufc/g)

a) Resultados

Día	R	CMI 0	CMI 0.5	CMI 1	CMI 2
0	1	0.00	0.00	0.00	0.00
	2	0.00	0.00	0.00	0.00
	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	Promedio	0.00	0.00	0.00	0.00
	Desvest	0.00	0.00	0.00	0.00
5	1	0.00	0.00	0.00	0.00
	2	0.00	0.00	0.00	0.00
	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	Promedio	0.00	0.00	0.00	0.00
	Desvest	0.00	0.00	0.00	0.00
10	1	0.00	0.00	0.00	0.00
	2	0.00	0.00	0.00	0.00
	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	Promedio	0.00	0.00	0.00	0.00
	Desvest	0.00	0.00	0.00	0.00
15	1	0.00	0.00	0.00	0.00
	2	0.00	0.00	0.00	0.00
	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	Promedio	0.00	0.00	0.00	0.00
	Desvest	0.00	0.00	0.00	0.00
20	1	0.00	0.00	0.00	0.00
	2	0.00	0.00	0.00	0.00
	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	Promedio	0.00	0.00	0.00	0.00
	Desvest	0.00	0.00	0.00	0.00

b) ANVA Efectos principales

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Cmo

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo	.000 ^a	20	.000	.	.
Día	.000	4	.000	.	.
CencAP	.000	3	.000	.	.
Día * CencAP	.000	12	.000	.	.
Error	.000	40	.000		
Total	.000	60			

a. R cuadrado = . (R cuadrado corregida = .)

c) ANVA Efectos simples: No pertinente

d) Comparación de Medias: No pertinente

e) Prueba de Normalidad: Kolmogorov-Smirnov

Hipotesis nula	Test	Sig.	Decisión
La distribución de Cmo es normal con la media 0.000 y la desviación típica 0.00	Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra	.	No se puede calcular

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es .05.

f) Prueba de Homogeneidad de Varianza: Levene

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Cmo	.	3	.	.

ANEXO 2: Efecto sobre el pH del chorizo Sin Inóculo

a) Resultados

Día	R	CMI 0	CMI 0.5	CMI 1	CMI 2
0	1	5.77	5.43	5.34	5.20
	2	5.75	5.43	5.34	5.19
	3	5.73	5.42	5.34	5.17
	Promedio	5.75	5.43	5.34	5.19
	Desvest	0.02	0.00	0.00	0.02
10	1	5.75	5.51	5.44	5.19
	2	5.78	5.51	5.40	5.17
	3	5.80	5.50	5.35	5.15
	Promedio	5.78	5.51	5.40	5.17
	Desvest	0.02	0.00	0.05	0.02
20	1	5.73	5.50	5.36	5.18
	2	5.76	5.48	5.34	5.17
	3	5.78	5.46	5.32	5.15
	Promedio	5.76	5.48	5.34	5.17
	Desvest	0.02	0.02	0.02	0.01

b) ANVA Efectos principales

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta al cuadrado parcial
Modelo	1067.180 ^a	12	88.932	198545.177	.000	1.000
Día	.008	2	.004	9.391	.001	.439
ConcAP	1.630	3	.543	1212.814	.000	.993
Día *	.009	6	.002	3.493	.013	.466
ConcAP						
Error	.011	24	.000			
Total	1067.191	36				

a. R cuadrado = 1.000 (R cuadrado corregida = 1.000)

c) ANVA Efectos Simples

Origen	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Día within ConcAP (1)	0.00	2	0.00	1.17	0.327
Día within ConcAP (2)	0.01	2	0.01	0.10	0.905
Día within ConcAP (3)	0.01	2	0.00	0.06	0.941
Día within ConcAP (4)	0.00	2	0.00	0.01	0.994
ConcAP within Día (1)	0.51	3	0.17	4.76	0.007
ConcAP within Día (2)	0.57	3	0.19	5.57	0.003
ConcAP within Día (3)	0.56	3	0.19	5.42	0.004

d) Comparación de Medias

Factor: Día

Prueba DMS

(i)Día	(j)Día	Diferencia de medias (i-j)	Error tip.	Sig.	Intervalo de confianza 95%		
					Límite inferior	Límite superior	
DMS	.00	10.00	-.0363*	.00864	.000	-.0541	-.0184
		20.00	-.0100	.00864	.259	-.0278	.0078
	10.00	.00	.0363*	.00864	.000	.0184	.0541
		20.00	.0263*	.00864	.006	.0084	.0441
	20.00	.00	.0100	.00864	.259	-.0078	.0278
		10.00	-.0263*	.00864	.006	-.0441	-.0084

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = .000.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Prueba de Duncan

	Día	N	Subconjunto	
			1	2
Duncan ^{ab}	.00	12	5.4250	
	20.00	12	5.4350	
	10.00	12		5.4613
	Sig.		.259	1.000

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = .000.

- a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 12.000
 b. Alfa = .05.

Factor: Concentración de Aji Panca (ConcAP)

Prueba DMS

(I)ConcAP	(J)ConcAP	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Límite inferior	Límite superior
DMS	.50	.2900 [*]	.00998	.000	.2694	.3106
	.00	1.00	.4017 [*]	.00998	.3811	.4223
		2.00	.5867 [*]	.00998	.5661	.6073
		.00	-.2900 [*]	.00998	-.3106	-.2694
	.50	1.00	.1117 [*]	.00998	.0911	.1323
		2.00	.2967 [*]	.00998	.2761	.3173
		.00	-.4017 [*]	.00998	-.4223	-.3811
	1.00	.50	-.1117 [*]	.00998	-.1323	-.0911
		2.00	.1850 [*]	.00998	.1644	.2056
		.00	-.5867 [*]	.00998	-.6073	-.5661
	2.00	.50	-.2967 [*]	.00998	-.3173	-.2761
		1.00	-.1850 [*]	.00998	-.2056	-.1644

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .000.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Prueba de Duncan

ConcAP	N	Subconjunto			
		1	2	3	4
2.00	9	5.1733			
1.00	9		5.3583		
Duncan ^{a,b}	.50			5.4700	
	.00				5.7600
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .000.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 9.000

b. Alfa = .05.

e) Prueba de Normalidad: Kolmogorov-Smirnov

Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
La distribución de pH es normal con la media 5.440 y la desviación típica 0.22	Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra	.328	Retener la hipótesis nula

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es .05.

f) Prueba de Homogeneidad de Varianza: Levene

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
pH	2.450	3	32	.081

ANEXO 3: Efecto sobre la actividad de agua del chorizo Sin Inóculo

a) Resultados

Día	R	CMI 0	CMI 0.5	CMI 1	CMI 2
0	1	0.981	0.979	0.971	0.957
	2	0.983	0.978	0.970	0.955
	3	0.985	0.977	0.968	0.953
	Promedio	0.983	0.978	0.970	0.955
	Desvest	0.002	0.001	0.002	0.002
10	1	0.966	0.978	0.973	0.959
	2	0.976	0.979	0.974	0.957
	3	0.985	0.979	0.975	0.954
	Promedio	0.976	0.979	0.974	0.957
	Desvest	0.010	0.001	0.001	0.003
20	1	0.984	0.973	0.973	0.957
	2	0.984	0.975	0.974	0.958
	3	0.984	0.977	0.975	0.958
	Promedio	0.984	0.975	0.974	0.958
	Desvest	0.000	0.002	0.001	0.001

b) ANVA Efectos Principales

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta al cuadrado parcial
Modelo	33.996 ^a	12	2.833	297342.195	.000	1.000
Día	1.643E-005	2	8.215E-006	.862	.435	.067
ConcAP	.003	3	.001	109.691	.000	.932
Día * ConcAP	.000	6	3.697E-005	3.250	.018	.448
Error	.000	24	9.528E-006			
Total	33.996	36				

a. R cuadrado = 1.000 (R cuadrado corregida = 1.000)

c) ANVA Efectos Simples

Origen	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Día within ConcAP (1)	0.00	2	0.00	6.80	0.005
Día within ConcAP (2)	0.00	2	0.00	0.10	0.905
Día within ConcAP (3)	0.00	2	0.00	0.19	0.828
Día within ConcAP (4)	0.00	2	0.00	0.05	0.952
ConcAP within Día (1)	0.00	3	0.00	6.51	0.001
ConcAP within Día (2)	0.00	3	0.00	3.53	0.026
ConcAP within Día (3)	0.00	3	0.00	4.65	0.008

d) Comparación de Medias

Factor: Día

Prueba DMS

(I)Día	(J)Día	Diferencia de medias (I-J)	Error tip.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Límite inferior	Límite superior
DMS	10.00	.00	.001260	.844	-.00235	.00285
	20.00	-.00129	.001260	.316	-.00389	.00131
	10.00	.00	.001260	.844	-.00285	.00235
	20.00	-.00154	.001260	.233	-.00414	.00106
	20.00	.00	.001260	.316	-.00131	.00389
	10.00	.00154	.001260	.233	-.00106	.00414

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 9.528E-006.

Prueba de Duncan

	Día	N	Subconjunto
			1
Duncan ^{ab}	10.00	12	.97113
	.00	12	.97138
	20.00	12	.97267
	Sig.		.259

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = 9.528E-006.

- a. Usa el tamaño muestral de la media armónica
= 12.000
b. Alfa = .05.

Factor: Concentración de Aji Panca

Prueba DMS

(I)ConcAP	(J)ConcAP	Diferencia de medias (I-J)	Error tip.	Sig.	Intervalo de confianza 95%		
					Límite inferior	Límite superior	
DMS	.50	.00367*	.001455	.019	.00066	.00667	
	.00	1.00	.00833*	.001455	.000	.00533	.01134
		2.00	.02444*	.001455	.000	.02144	.02745
	.50	.00	-.00367*	.001455	.019	-.00667	-.00066
		1.00	.00467*	.001455	.004	.00166	.00767
	2.00	1.00	.02078*	.001455	.000	.01777	.02378
		.00	-.00833*	.001455	.000	-.01134	-.00533
	1.00	.50	-.00467*	.001455	.004	-.00767	-.00166
		2.00	.01611 [†]	.001455	.000	.01311	.01911
	.50	.00	-.02444*	.001455	.000	-.02745	-.02144
		1.00	-.02078*	.001455	.000	-.02378	-.01777
	2.00	.00	-.01611 [†]	.001455	.000	-.01911	-.01311

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 9.528E-006.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Prueba de Duncan

ConcAP	N	Subconjunto			
		1	2	3	4
2.00	9	.95639			
1.00	9		.97250		
.50	9			.97717	
.00	9				.98083
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 9.528E-006.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 9.000

b. Alfa = .05.

e) Prueba de Normalidad: Kolmogorov-Smirnov

Hipotesis nula	Test	Sig.	Decisión
La distribución de Aw es normal con la media 0.972 y la desviación típica 0.01	Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra	.152	Retener la hipótesis nula

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es .05.

f) Prueba de Homogeneidad de Varianza: Levene

	Estadístico de Levene	g1	g2	Sig.
Aw	3.351	3	32	.071

ANEXO 4: Efecto sobre el % Humedad del chorizo Sin Inóculo

a) Resultados

Día	R	CMI 0	CMI 0.5	CMI 1	CMI 2
0	1	42.76%	46.39%	48.98%	55.96%
	2	42.75%	46.50%	49.62%	55.43%
	3	42.74%	46.60%	50.27%	54.90%
	Promedio	42.75%	46.50%	49.62%	55.43%
	Desvest	0.01%	0.10%	0.65%	0.53%
10	1	41.40%	49.38%	48.70%	55.86%
	2	41.65%	48.48%	48.58%	55.73%
	3	41.89%	47.59%	48.46%	55.59%
	Promedio	41.65%	48.48%	48.58%	55.73%
	Desvest	0.24%	0.89%	0.12%	0.14%
20	1	42.45%	46.70%	49.12%	55.38%
	2	42.56%	46.33%	48.85%	55.44%
	3	42.67%	45.97%	48.59%	55.49%
	Promedio	42.56%	46.33%	48.85%	55.44%
	Desvest	0.11%	0.36%	0.26%	0.05%

b) ANVA Efectos Principales

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta al cuadrado parcial
Modelo	85479.067 ^a	12	7123.256	46957.060	.000	1.000
Día	.709	2	.355	2.337	.118	.163
ConcAP	808.734	2	269.578	1777.079	.000	.996
Día * ConcAP	11.903	6	1.984	13.077	.000	.766
Error	3.641	24	.152			
Total	85482.708	36				

a. R cuadrado = 1.000 (R cuadrado corregida = 1.000)

e) ANVA Efectos Secundarios

Origen	Suma de cuadrados	Gf	Media cuadrática	F	Sig.
Día within ConcAP (1)	2.09	2	1.04	6.88	0.004
Día within ConcAP (2)	8.60	2	4.30	0.17	0.841
Día within ConcAP (3)	1.76	2	0.88	0.04	0.965
Día within ConcAP (4)	0.17	2	0.09	0.00	0.997
ConcAP within Día (1)	259.02	3	86.34	4.88	0.007
ConcAP within Día (2)	297.46	3	99.15	6.01	0.002
ConcAP within Día (3)	264.16	3	88.05	5.02	0.006

d) Comparación de Medias

Factor: Día

Prueba DMS

(I)Día	(J)Día	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig.	Intervalo de confianza 95%		
					Límite inferior	Límite superior	
DMS	.00	10.00	-.0342	.15901	.832	-.3623	.2940
		20.00	.2792	.15901	.092	-.0490	.6073
	.00		.0342	.15901	.832	-.2940	.3623
	10.00	20.00	-.3133	.15901	.060	-.0148	.6415
		.00	-.2792	.15901	.092	-.6073	.0490
	20.00	10.00	-.3133	.15901	.060	-.6415	.0148

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .152.

Prueba de Duncan

	Día	N	Subconjunto
			I
Duncan ^{ab}	20.00	12	48.2958
	.00	12	48.5750
	10.00	12	48.6092
	Sig.		.073

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = .152.

- a. Usa el tamaño muestral de la media armónica
= 12.000
b. Alfa = .05.

Factor: Concentración de Aji Panca

Prueba DMS

(I)ConcAP	(J)ConcAP	Diferencia de medias (I-J)	Error tip.	Sig.	Intervalo de confianza 95%		
					Límite inferior	Límite superior	
DMS	.50	-4.7856 ^a	.18360	.000	-5.1645	-4.4056	
	.00	1.00	-6.7000 ^a	.18360	.000	-7.0789	-6.3211
		2.00	-13.2122 ^a	.18360	.000	-13.5912	-12.8333
		.00	4.7856 ^a	.18360	.000	4.4066	5.1645
	.50	1.00	-1.9144 ^a	.18360	.000	-2.2934	-1.5355
		2.00	-8.4267 ^a	.18360	.000	-8.8056	-8.0477
		.00	6.7000 ^a	.18360	.000	6.3211	7.0789
	1.00	.50	1.9144 ^a	.18360	.000	1.5355	2.2934
		2.00	-6.5122 ^a	.18360	.000	-6.8912	-6.1333
		.00	13.2122 ^a	.18360	.000	12.8333	13.5912
	2.00	.50	8.4267 ^a	.18360	.000	8.0477	8.8056
		1.00	6.5122 ^a	.18360	.000	6.1333	6.8912

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .152.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Prueba de Duncan

ConcAP	N	Subconjunto			
		1	2	3	4
.00	9	42.3189			
Duncan ^{a,b}	.50		47.1044		
	1.00			49.0189	
	2.00				55.5311
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = .152.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 9.000

b. Alfa = .05.

e) Prueba de Normalidad: Kolmogorov-Smirnov

Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
La distribución de Humedad es normal con la media 48.493 y la desviación típica 4.86	Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra	.341	Retener la hipótesis nula

Se muestran las significancias asíntoticas. El nivel de significancia es .05.

f) Prueba de Homogeneidad de Varianza: Levene

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Humedad	5.283	3	32	.054

**ANEXO 5: Efecto microbiológico del chorizo inoculado con *Escherichia coli*
(Log₁₀ ufc/g)**

a) Resultados

Día	R	CMI 0	CMI 0.5	CMI 1	CMI 2
0	1	5.40	5.11	5.89	4.11
	2	5.72	5.15	5.61	5.57
	3	5.90	5.19	4.53	5.86
	Promedio	5.67	5.15	5.34	5.18
	Desvest	0.26	0.04	0.72	0.94
5	1	5.81	5.76	5.71	4.00
	2	5.76	5.82	5.53	4.00
	3	5.72	5.88	5.23	4.00
	Promedio	5.76	5.82	5.49	4.00
	Desvest	0.05	0.06	0.24	0.00
10	1	5.78	5.32	5.32	4.81
	2	5.71	5.61	5.43	4.74
	3	5.62	5.79	5.52	4.66
	Promedio	5.70	5.57	5.42	4.74
	Desvest	0.08	0.23	0.10	0.07
15	1	5.58	5.72	5.08	4.00
	2	5.59	5.74	5.23	4.00
	3	5.60	5.75	5.34	4.00
	Promedio	5.59	5.74	5.22	4.00
	Desvest	0.01	0.01	0.13	0.00
20	1	5.72	5.77	5.41	3.00
	2	5.65	5.77	5.39	3.00
	3	5.57	5.77	5.36	3.00
	Promedio	5.64	5.77	5.39	3.00
	Desvest	0.07	0.00	0.02	0.00

b) ANVA Efectos Principales

Origen	Suma de cuadrados tipo III	Gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta al cuadrado parcial
Modelo	1659.973 ^a	20	82.999	1019.912	.000	.998
Día	1.372	4	.343	4.216	.006	.297
ConcAP	21.852	3	7.284	89.509	.000	.870
Día * ConcAP	8.000	12	.667	8.192	.000	.711
Error	3.255	40	.081			
Total	1663.230	60				

a. R cuadrado = .998 (R cuadrado corregida = .997)

c) ANVA Efectos Simples

Origen	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Día within ConcAP (1)	0.05	4	0.01	0.15	0.960
Día within ConcAP (2)	0.90	4	0.22	2.75	0.041
Día within ConcAP (3)	0.13	4	0.03	0.38	0.818
Día within ConcAP (4)	8.30	4	2.08	25.50	0.000
ConcAP within Día (1)	0.52	3	0.17	2.12	0.112
ConcAP within Día (2)	6.62	3	2.21	27.12	0.000
ConcAP within Día (3)	1.67	3	0.56	6.83	0.001
ConcAP within Día (4)	5.59	3	1.86	22.90	0.000
ConcAP within Día (5)	15.45	3	5.15	63.30	0.000

d) Comparación de Medias

Factor: Día

Prueba DMS

(I)Día	(J)Día	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig.	Intervalo de confianza 95%		
					Límite inferior	Límite superior	
DMS	.00	5.00	.0683	.11646	.561	-.1670	.3037
		10.00	-.0225	.11646	.848	-.2579	.2129
		15.00	.2008	.11646	.092	-.0345	.4362
		20.00	.3858*	.11646	.002	.1505	.6212
	5.00	.00	-.0683	.11646	.561	-.3037	.1670
		10.00	-.0908	.11646	.440	-.3262	.1445
		15.00	.1325	.11646	.262	-.1029	.3679
		20.00	.3175*	.11646	.009	.0821	.5529
	10.00	.00	.0225	.11646	.848	-.2129	.2579
		5.00	.0908	.11646	.440	-.1445	.3262
		15.00	.2233	.11646	.062	-.0120	.4587
		20.00	.4083*	.11646	.001	.1730	.6437
15.00	.00	-.2008	.11646	.092	-.4362	.0345	
	5.00	-.1325	.11646	.262	-.3679	.1029	
	10.00	-.2233	.11646	.062	-.4587	.0120	
	20.00	.1850	.11646	.120	-.0504	.4204	
20.00	.00	-.3858*	.11646	.002	-.6212	-.1505	
	5.00	-.3175*	.11646	.009	-.5529	-.0821	
	10.00	-.4083*	.11646	.001	-.6437	-.1730	
	15.00	-.1850	.11646	.120	-.4204	.0504	

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .081.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Prueba de Duncan

	Dia	N	Subconjunto	
			1	2
Duncan ^{ab}	20.00	12	4.9508	
	15.00	12	5.1358	5.1358
	5.00	12		5.2683
	.00	12		5.3367
	10.00	12		5.3592
	Sig.			.120

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .081.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 12,000

b. Alfa = .05.

Factor: Concentración de Aji Panca

Prueba DMS

	(I)ConcAP	(J)ConcAP	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
						Límite inferior	Límite superior
DMS	.00	.50	.0653	.10417	.534	-.1452	.2759
		1.00	.3033*	.10417	.006	.0928	.5139
		2.00	1.4920*	.10417	.000	1.2815	1.7025
	.50	.00	-.0653	.10417	.534	-.2759	.1452
		1.00	.2300*	.10417	.028	.0275	.4485
		2.00	1.4267*	.10417	.000	1.2161	1.6372
	1.00	.00	-.3033*	.10417	.006	-.5139	-.0928
		.50	-.2380*	.10417	.028	-.4485	-.0275
		2.00	1.1887*	.10417	.000	.9781	1.3992
	2.00	.00	-1.4920*	.10417	.000	-1.7025	-1.2815
		.50	-1.4267*	.10417	.000	-1.6372	-1.2161
		1.00	-1.1887*	.10417	.000	-1.3992	-.9781

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .081.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Prueba de Duncan

	ConeAP	N	Subconjunto		
			1	2	3
Duncan ^{ab}	2,00	15	4,1833		
	1,00	15		5,3720	
	,50	15			5,6100
	,00	15			5,6753
	Sig.		1,000	1,000	,534

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.
Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .081.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 15,000

b. Alfa = .05.

e) Prueba de Normalidad: Kolmogorov-Smirnov

Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
La distribución de Cmo es normal con la media 5,210 y la desviación típica 0,76	Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra	,055	Retener la hipótesis nula

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es .05.

f) Prueba de Homogeneidad de Varianza: Levene

	Estadístico de Levene	g1	g2	Sig.
Cmo	8,936	3	56	,059

ANEXO 6: Efecto sobre el pH del chorizo inoculado con *Escherichia coli*

a) Resultados

Día	R	CMI 0	CMI 0.5	CMI 1	CMI 2
0	1	5.79	5.46	5.33	5.19
	2	5.79	5.46	5.33	5.19
	3	5.79	5.46	5.33	5.18
	Promedio	5.79	5.46	5.33	5.19
	Desvest	0.00	0.00	0.00	0.01
10	1	5.79	5.48	5.39	5.21
	2	5.80	5.51	5.39	5.18
	3	5.81	5.53	5.39	5.15
	Promedio	5.80	5.51	5.39	5.18
	Desvest	0.01	0.02	0.00	0.03
20	1	5.76	5.46	5.33	5.14
	2	5.77	5.46	5.32	5.14
	3	5.78	5.46	5.31	5.13
	Promedio	5.77	5.46	5.32	5.14
	Desvest	0.01	0.00	0.01	0.00

b) ANVA Efectos Principales

Origen	Suma de cuadrados tipo III	Gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta al cuadrado parcial
Modelo	1068.700 ^a	12	89.058	569973.560	.000	1.000
Día	.014	2	.007	43.680	.000	.784
CocAP	1.843	3	.614	3931.560	.000	.998
Día * CocAP	.005	6	.001	5.280	.001	.569
Error	.004	24	.000			
Total	1068.704	36				

a. R cuadrado = 1.000 (R cuadrado corregida = 1.000)

c) ANVA Efectos Simples

Origen	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Día within ConcAP (1)	0.00	2	0.00	4.48	0.022
Día within ConcAP (2)	0.00	2	0.00	0.04	0.965
Día within ConcAP (3)	0.01	2	0.00	0.08	0.927
Día within ConcAP (4)	0.00	2	0.00	0.04	0.961
ConcAP within Día (1)	0.60	3	0.20	5.06	0.006
ConcAP within Día (2)	0.60	3	0.20	5.08	0.005
ConcAP within Día (3)	0.65	3	0.22	5.65	0.003

d) Comparación de Medias

Factor: Día

(I)Día	(J)Día	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig.	Intervalo de confianza 95%		
					Límite inferior	Límite superior	
DMS	.00	10.00	-.0275 [*]	.00510	.000	-.0380	-.0170
		20.00	.0200 [*]	.00510	.001	.0095	.0305
	10.00	.00	.0275 [*]	.00510	.000	.0170	.0380
		20.00	.0475 [*]	.00510	.000	.0370	.0580
	20.00	.00	-.0200 [*]	.00510	.001	-.0305	-.0095
		10.00	-.0475 [*]	.00510	.000	-.0580	-.0370

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = .000.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Prueba de Duncan

	Día	N	Subconjunto		
			1	2	3
Duncan ^{ab}	20.00	12	5.4213		
	.00	12		5.4413	
	10.00	12			5.4613
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .000.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 12,000

b. Alfa = .05.

Factor: Concentración de Aji Panca

Prueba DMS

	(I)ConcAP	(J)ConcAP	Diferencia de medias (I-J)	Error tip.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
						Límite inferior	Límite superior
DMS	.00	.50	.3117 [*]	.00589	.000	.2995	.3238
		1.00	.4400 [*]	.00589	.000	.4278	.4522
		2.00	.6200 [*]	.00589	.000	.6078	.6322
	.50	.00	-.3117 [*]	.00589	.000	-.3238	-.2995
		1.00	.1283 [*]	.00589	.000	.1162	.1405
		2.00	.3083 [*]	.00589	.000	.2962	.3205
	1.00	.00	-.4400 [*]	.00589	.000	-.4522	-.4278
		.50	-.1283 [*]	.00589	.000	-.1405	-.1162
		2.00	.1800 [*]	.00589	.000	.1678	.1922
	2.00	.00	-.6200 [*]	.00589	.000	-.6322	-.6078
		.50	-.3083 [*]	.00589	.000	-.3205	-.2962
		1.00	-.1800 [*]	.00589	.000	-.1922	-.1678

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .000.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Prueba de Duncan

	ConcAP	N	Subconjunto			
			1	2	3	4
Duncan ^{a,b}	2.00	9	5.1667			
	1.00	9		5.3467		
	.50	9			5.4750	
	.00	9				5.7867
	Sig.			1.000	1.000	1.000

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = .000.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 9.000

b. Alfa = .05.

e) Prueba de Normalidad: Kolmogorov-Smirnov

Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
La distribución de pH es normal con la media 5.444 y la desviación típica 0.23	Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra	.283	Retener la hipótesis nula

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es .05.

f) Prueba de Homogeneidad de Varianza: Levene

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
pH	3.672	3	32	.052

**ANEXO 7: Efecto sobre la actividad de agua del chorizo inoculado con
*Escherichia coli***

a) Resultados

Día	R	CMI 0	CMI 0.5	CMI 1	CMI 2
0	1	0.985	0.982	0.967	0.946
	2	0.986	0.981	0.967	0.947
	3	0.986	0.979	0.966	0.947
	Promedio	0.986	0.981	0.967	0.947
	Desvest	0.001	0.002	0.001	0.001
10	1	0.981	0.974	0.970	0.958
	2	0.983	0.976	0.972	0.958
	3	0.984	0.977	0.973	0.958
	Promedio	0.983	0.976	0.972	0.958
	Desvest	0.002	0.002	0.002	0.000
20	1	0.986	0.980	0.974	0.959
	2	0.987	0.980	0.974	0.959
	3	0.988	0.980	0.974	0.958
	Promedio	0.987	0.980	0.974	0.959
	Desvest	0.001	0.000	0.000	0.001

b) ANVA Efectos Principales

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta al cuadrado parcial
Modelo	34.029 ^a	12	2.836	3093552.273	.000	1.000
Día	.000	2	7.956E-005	86.795	.000	.879
ConcAP	.005	3	.002	1725.455	.000	.995
Día * ConcAP	.000	6	4.698E-005	51.250	.000	.928
Error	2.200E-005	24	9.167E-007			
Total	34.029	36				

a. R cuadrado = 1.000 (R cuadrado corregida = 1.000)

c) ANVA Efectos Simples

Origen	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Dia within ConcAP (1)	0.00	2	0.00	17.18	0.000
Dia within ConcAP (2)	0.00	2	0.00	0.15	0.865
Dia within ConcAP (3)	0.00	2	0.00	0.28	0.756
Dia within ConcAP (4)	0.00	2	0.00	0.93	0.407
ConcAP within Dia (1)	0.00	3	0.00	11.88	0.000
ConcAP within Dia (2)	0.00	3	0.00	2.40	0.086
ConcAP within Dia (3)	0.00	3	0.00	3.65	0.023

d) Comparación de Medias

Factor: Dia

Prueba DMS

	(I)Dia	(J)Dia	Diferencia de medias (I-J)	Error tip.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
						Límite inferior	Límite superior
DMS	.00	10.00	-.00213*	.000391	.000	-.00293	-.00132
		20.00	-.00513*	.000391	.000	-.00593	-.00432
	10.00	.00	.00213*	.000391	.000	.00132	.00293
		20.00	-.00300*	.000391	.000	-.00381	-.00219
	20.00	.00	.00513*	.000391	.000	.00432	.00593
		10.00	.00300*	.000391	.000	.00219	.00381

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 9.167E-007.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Prueba de Duncan

	Dia	N	Subconjunto		
			1	2	3
Duncan ^{a,b}	.00	12	.96975		
	10.00	12		.97188	
	20.00	12			.97488
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 9.167E-007.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 12.000

b. Alfa = .05.

Factor: Concentración de Aji Panca

Prueba DMS

	(I)ConcAP	(J)ConcAP	Diferencia de medias (I-J)	Error tip.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
						Límite inferior	Límite superior
DMS	.00	.50	.00633*	.000451	.000	.00540	.00726
		1.00	.01433*	.000451	.000	.01340	.01526
		2.00	.03067*	.000451	.000	.02974	.03160
	.50	.00	-.00633*	.000451	.000	-.00726	-.00540
		1.00	.00800*	.000451	.000	.00707	.00893
		2.00	.02433*	.000451	.000	.02340	.02526
	1.00	.00	-.01433*	.000451	.000	-.01526	-.01340
		.50	-.00800*	.000451	.000	-.00893	-.00707
		2.00	.01633*	.000451	.000	.01540	.01726
	2.00	.00	-.03067*	.000451	.000	-.03160	-.02974
		.50	-.02433*	.000451	.000	-.02526	-.02340
		1.00	-.01633*	.000451	.000	-.01726	-.01540

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 9.167E-007.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Prueba de Duncan

	ConcAP	N	Subconjunto			
			1	2	3	4
Duncan ^{a,b}	2.00	9	.95433			
	1.00	9		.97067		
	.50	9			.97867	
	.00	9				.98500
	Sig.			1.000	1.000	1.000

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 9.167E-007.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 9.000

b. Alfa = .05.

e) Prueba de Normalidad: Kolmogorov-Smirnov

Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
La distribución de Aw es normal con la media 0.972 y la desviación típica 0.01	Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra	.453	Retener la hipótesis nula

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es .05.

f) Prueba de Homogeneidad de Varianza: Levene

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Aw	9.563	3	32	.103

ANEXO 8: Efecto sobre la %Humedad del chorizo inoculado con *Escherichia coli*

a) Resultados

Día	r	CMI 0	CMI 0.5	CMI 1	CMI 2
0	1	41.26%	46.31%	48.74%	55.78%
	2	41.29%	46.84%	48.78%	55.80%
	3	41.32%	47.38%	48.83%	55.81%
	Promedio	41.29%	46.84%	48.78%	55.80%
	Desvest	0.03%	0.53%	0.05%	0.01%
10	1	38.79%	46.49%	49.66%	56.42%
	2	39.74%	46.39%	50.41%	56.05%
	3	40.69%	46.28%	51.16%	55.68%
	Promedio	39.74%	46.39%	50.41%	56.05%
	Desvest	0.95%	0.11%	0.75%	0.37%
20	1	41.53%	46.31%	49.46%	56.81%
	2	41.49%	46.91%	49.49%	56.23%
	3	41.45%	47.51%	49.52%	55.64%
	Promedio	41.49%	46.91%	49.49%	56.23%
	Desvest	0.04%	0.60%	0.03%	0.58%

b) ANVA Efectos Principales

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta al cuadrado parcial
Modelo	85035.908 ^a	12	7086.326	31277.000	.000	1.000
Día	1.039	2	.519	2.293	.123	.160
ConcAP	1079.177	3	359.726	1587.726	.000	.995
Día * ConcAP	9.321	6	1.554	6.857	.000	.632
Error	5.438	24	.227			
Total	85041.345	36				

a. R cuadrado = 1.000 (R cuadrado corregida = 1.000)

c) ANVA Efectos Simples

Origen	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Día within ConcAP (1)	5.51	2	2.75	12.15	0.000
Día within ConcAP (2)	0.55	2	0.28	0.01	0.992
Día within ConcAP (3)	3.99	2	2.00	0.06	0.942
Día within ConcAP (4)	0.31	2	0.15	0.00	0.995
ConcAP within Día (1)	322.91	3	107.64	4.46	0.010
ConcAP within Día (2)	428.55	3	142.85	6.86	0.001
ConcAP within Día (3)	227.04	3	112.35	4.74	0.008

d) Comparación de Medias

Factor: Día

Prueba DMS

(I)Día	(J)Día	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig.	Intervalo de confianza 95%		
					Límite inferior	Límite superior	
DMS	.00	10.00	.0183	.19432	.926	-.3827	.4194
	20.00	-.3508	.19432	.084	-.7519	.0502	
	10.00	.00	-.0183	.19432	.926	-.4194	.3827
	20.00	-.3692	.19432	.070	-.7702	.0319	
	.00	.3508	.19432	.084	-.0502	.7519	
	20.00	10.00	.3692	.19432	.070	-.0319	.7702

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = .227.

Prueba de Duncan

	Día	N	Subconjunto
			i
Duncan ^{ab}	10.00	12	48.1600
	.00	12	48.1783
	20.00	12	48.5292
	Sig.		.084

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = .227.

- a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 12.000
 b. Alfa = .05.

Factor: Concentración de Aji Panca

Prueba DMS

	(I)ConcAP	(J)ConcAP	Diferencia de medias (I-J)	Error tip.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
						Límite inferior	Límite superior
DMS	.00	.50	-5.8622 ^a	.22438	.000	-6.3253	-5.3991
		1.00	-8.7211 ^a	.22438	.000	-9.1842	-8.2580
		2.00	-15.2133 ^a	.22438	.000	-15.6764	-14.7502
	.50	.00	5.8622 ^a	.22438	.000	5.3991	6.3253
		1.00	-2.8589 ^a	.22438	.000	-3.3220	-2.3958
		2.00	-9.3511 ^a	.22438	.000	-9.8142	-8.8880
	1.00	.00	8.7211 ^a	.22438	.000	8.2580	9.1842
		.50	2.8589 ^a	.22438	.000	2.3958	3.3220
		2.00	-6.4922 ^a	.22438	.000	-6.9553	-6.0291
	2.00	.00	15.2133 ^a	.22438	.000	14.7502	15.6764
		.50	9.3511 ^a	.22438	.000	8.8880	9.8142
		1.00	6.4922 ^a	.22438	.000	6.0291	6.9553

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = .227.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Prueba de Duncan

	ConcAP	N	Subconjunto			
			1	2	3	4
Duncan ^{a,b}	.00	9	40.8400			
	.50	9		46.7022		
	1.00	9			49.5611	
	2.00	9				56.0533
	Sig.			1.000	1.000	1.000

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = .227.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 9.000

b. Alfa = .05.

e) Prueba de Normalidad: Kolmogorov-Smirnov

Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
La distribución de Humedad es normal con la media 5.210 y la desviación típica 0.76	Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra	.055	Retener la hipótesis nula

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es .05.

f) Prueba de Homogeneidad de Varianza: Levene

	Estadístico de Levene	g11	g12	Sig.
Humedad	1.575	3	32	.080

ANEXO 9: Efecto microbiológico del chorizo inoculado con *Staphylococcus aureus*
Log₁₀ ufc/g)

a) Resultados

Día	c	CMI 0	CMI 0.5	CMI 1	CMI 2
0	1	5.15	5.66	5.41	5.34
	2	5.44	5.53	5.46	5.37
	3	5.61	5.32	5.51	5.40
	Promedio	5.40	5.50	5.46	5.37
	Desvest	0.24	0.17	0.05	0.03
5	1	5.28	4.78	5.28	4.00
	2	5.24	4.78	5.15	4.00
	3	5.20	4.78	4.95	4.00
	Promedio	5.24	4.78	5.13	4.00
	Desvest	0.04	0.00	0.16	0.00
10	1	5.28	4.95	4.85	3.96
	2	5.22	5.02	4.81	3.84
	3	5.16	5.08	4.76	3.66
	Promedio	5.22	5.02	4.80	3.82
	Desvest	0.06	0.06	0.05	0.15
15	1	5.17	4.75	4.94	3.08
	2	5.17	4.70	4.96	3.10
	3	5.17	4.64	4.98	3.11
	Promedio	5.17	4.70	4.96	3.10
	Desvest	0.00	0.05	0.02	0.02
20	1	5.44	4.86	5.23	2.78
	2	5.42	4.96	5.16	2.81
	3	5.39	5.04	5.08	2.85
	Promedio	5.42	4.95	5.16	2.81
	Desvest	0.02	0.09	0.08	0.03

b) ANVA Efectos Principales

Origen	Suma de cuadrados tipo III	Gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta al cuadrado parcial
Modelo	1416.474 ^a	20	70.824	8509.971	.000	1.000
Día	6.683	4	1.671	200.754	.000	.953
ConcAP	19.901	3	6.634	797.076	.000	.984
Día * ConcAP	7.306	12	.609	73.151	.000	.956
Error	.333	40	.008			
Total	1416.807	60				

a. R cuadrado = 1.000 (R cuadrado corregida = 1.000)

c) ANVA Efectos Simples

Origen	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Día within ConcAP (1)	0.15	4	0.04	4.45	0.005
Día within ConcAP (2)	1.19	4	0.30	0.50	0.739
Día within ConcAP (3)	0.72	4	0.18	0.30	0.878
Día within ConcAP (4)	11.93	4	2.98	7.36	0.000
ConcAP within Día (1)	0.03	3	0.01	0.02	0.997
ConcAP within Día (2)	2.83	3	0.94	1.68	0.182
ConcAP within Día (3)	3.46	3	1.15	2.10	0.111
ConcAP within Día (4)	8.00	3	2.67	5.69	0.002
ConcAP within Día (5)	12.89	3	4.30	11.28	0.000

d) Comparación de Medias

Factor: Día

Prueba DMS

	(I)Día	(J)Día	Diferencia de medias (I-J)	Error tip.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
						Límite inferior	Límite superior
DMS	.00	5.00	.6469*	.03724	.000	.5716	.7222
		10.00	.7173*	.03724	.000	.6421	.7926
		15.00	.9529*	.03724	.000	.8776	1.0281
		20.00	.8489*	.03724	.000	.7736	.9242
	5.00	.00	-.6469*	.03724	.000	-.7222	-.5716
		10.00	.0704	.03724	.066	-.0048	.1457
		15.00	.3060*	.03724	.000	.2307	.3813
		20.00	.2020*	.03724	.000	.1267	.2773
	10.00	.00	-.7173*	.03724	.000	-.7926	-.6421
		5.00	-.0704	.03724	.066	-.1457	.0048
		15.00	.2355*	.03724	.000	.1603	.3108
		20.00	.1315*	.03724	.001	.0563	.2068
	15.00	.00	-.9529*	.03724	.000	-1.0281	-.8776
		5.00	-.3060*	.03724	.000	-.3813	-.2307
		10.00	-.2355*	.03724	.000	-.3108	-.1603
		20.00	-.1040*	.03724	.008	-.1793	-.0287
	20.00	.00	-.8489*	.03724	.000	-.9242	-.7736
		5.00	-.2020*	.03724	.000	-.2773	-.1267
		10.00	-.1315*	.03724	.001	-.2068	-.0563
		15.00	.1040*	.03724	.008	.0287	.1793

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = .008.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Prueba de Duncan

Dia	N	Subconjunto			
		1	2	3	4
15.00	12	4.4806			
20.00	12		4.5846		
10.00	12			4.7162	
5.00	12			4.7866	
.00	12				5.4335
Sig.		1.000	1.000	.066	1.000

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .008.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 12.000

b. Alfa = .05.

Factor: Concentración de Aji Panca

Prueba DMS

(I)ConcAP	(J)ConcAP	Diferencia de medias (I-J)	Error tip.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Límite inferior	Límite superior
	.50	.2997*	.03331	.000	.2323	.3670
.00	1.00	.1881*	.03331	.000	.1208	.2555
	2.00	1.4694*	.03331	.000	1.4021	1.5368
.50	.00	-.2997*	.03331	.000	-.3670	-.2323
	1.00	-.1115*	.03331	.002	-.1788	-.0442
2.00	.00	1.1698*	.03331	.000	1.1024	1.2371
	1.00	-.1881*	.03331	.000	-.2555	-.1208
1.00	.50	.1115*	.03331	.002	.0442	.1788
	2.00	1.2813*	.03331	.000	1.2140	1.3486
2.00	.00	-1.4694*	.03331	.000	-1.5368	-1.4021
	.50	-1.1698*	.03331	.000	-1.2371	-1.1024
	1.00	-1.2813*	.03331	.000	-1.3486	-1.2140

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = .008.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Prueba de Duncan

ConcAP	N	Subconjunto			
		1	2	3	4
2.00	15	3.8202			
.50	15		4.9900		
Duncan ^{ab} 1.00	15			5.1015	
.00	15				5.2896
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .000.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 15.000

b. Alfa = .05.

e) Prueba de Normalidad: Kolmogorov-Smirnov

Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
La distribución de Cmo es normal con la media 4.800 y la desviación típica 0.76	Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra	.052	Retener la hipótesis nula

Se muestran las significancias asíntóticas. El nivel de significancia es .05.

f) Prueba de Homogeneidad de Varianza: Levene

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Cmo	13.073	3	56	.055

ANEXO 10: Efecto sobre el pH del chorizo inoculado con *Staphylococcus aureus*

a) Resultados

Día	r	CMI 0	CMI 0.5	CMI 1	CMI 2
0	1	5.79	5.46	5.35	5.17
	2	5.78	5.47	5.36	5.18
	3	5.76	5.48	5.36	5.19
	Promedio	5.78	5.47	5.36	5.18
	Desvest	0.02	0.01	0.01	0.01
10	1	5.78	5.50	5.37	5.18
	2	5.77	5.50	5.36	5.17
	3	5.76	5.49	5.34	5.15
	Promedio	5.77	5.50	5.36	5.17
	Desvest	0.01	0.00	0.02	0.01
20	1	5.79	5.50	5.32	5.14
	2	5.78	5.47	5.32	5.14
	3	5.76	5.44	5.31	5.13
	Promedio	5.78	5.47	5.32	5.14
	Desvest	0.02	0.03	0.01	0.00

b) ANVA Efectos Principales

Origen	Suma de cuadrados tipo III	Gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta al cuadrado parcial
Modelo	1182.943 ^a	16	73.934	403276.083	.000	1.000
Día	.012	3	.004	21.291	.000	.727
ConcAP	.791	3	.264	1438.861	.000	.994
Día *	.415	9	.046	251.749	.000	.990
ConcAP						
Error	.064	24	.000			
Total	1182.948	40				

a. R cuadrado = 1.000 (R cuadrado corregida = 1.000)

c) ANVA Efectos Simples

Origen	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Día within ConcAP (1)	0.00	2	0.00	0.14	8.73
Día within ConcAP (2)	0.00	2	0.00	0.01	0.989
Día within ConcAP (3)	0.00	2	0.00	0.03	0.971
Día within ConcAP (4)	0.00	2	0.00	0.03	0.972
ConcAP within Día (1)	0.56	3	0.19	4.79	0.007
ConcAP within Día (2)	0.58	3	0.19	5.05	0.006
ConcAP within Día (3)	0.66	3	0.22	6.11	0.007

d) Comparación de Medias

Factor: Día

Prueba DMS

(I)Día	(J)Día	Diferencia de medias (I-J)	Error tip.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Límite inferior	Límite superior
DMS	10.00	-.0013	.00553	.823	-.0127	.0102
	.00	.0534*	.00782	.000	.0373	.0696
	20.00	.0213*	.00553	.001	.0098	.0327
	.00	.0013	.00553	.823	-.0102	.0127
	10.00	.0547*	.00782	.000	.0385	.0708
	20.00	.0225*	.00553	.000	.0111	.0339
	.00	-.0534*	.00782	.000	-.0696	-.0373
	15.00	-.0547*	.00782	.000	-.0708	-.0385
	20.00	-.0322*	.00782	.000	-.0483	-.0160
	.00	-.0213*	.00553	.001	-.0327	-.0098
	20.00	-.0225*	.00553	.000	-.0339	-.0111
	15.00	.0322*	.00782	.000	.0160	.0483

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .000.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Prueba de Duncan

	Día	N	Subconjunto		
			1	2	3
Duncan ^{AB}	15.00	4	5.3916	3.4238	5.4450
	20.00	12			
	.00	12	1.000	1.000	5.4463
	10.00	12			
	Sig.				.855

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.
Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .000.

- a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 8.000
- b. Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos. No se garantizan los niveles de error tipo I.
- c. Alfa = .05.

Factor: Concentración de Aji Panca

Prueba DMS

	(I)ConcAP	(J)ConcAP	Diferencia de medias (I-J)	Error tip.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
						Límite inferior	Límite superior
DMS	.00	.50	.2138*	.00606	.000	.2013	.2263
		1.00	.3616*	.00606	.000	.3491	.3741
		2.00	.5324*	.00606	.000	.5199	.5449
	.50	.00	-.2138*	.00606	.000	-.2263	-.2013
		1.00	.1478*	.00606	.000	.1353	.1603
		2.00	.3185*	.00606	.000	.3060	.3310
	1.00	.00	-.3616*	.00606	.000	-.3741	-.3491
		.50	-.1478*	.00606	.000	-.1603	-.1353
		2.00	.1708*	.00606	.000	.1583	.1833
	2.00	.00	-.5324*	.00606	.000	-.5449	-.5199
		.50	-.3185*	.00606	.000	-.3310	-.3060
		1.00	-.1708*	.00606	.000	-.1833	-.1583

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .000.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Prueba de Duncan

ConcAP	N	Subconjunto			
		1	2	3	4
2.00	10	5.1782			
1.00	10		5.3490		
.50	10			5.4968	
.00	10				5.7106
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .000.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 10.000

b. Alfa = .05.

e) Prueba de Normalidad: Kolmogorov-Smirnov

Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
La distribución de pH es normal con la media 5.438 y la desviación típica 0.21	Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra	.243	Retener la hipótesis nula

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es .05.

f) Prueba de Homogeneidad de Varianza: Levene

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
pH	1.933	3	32	.144

**ANEXO 11: Efecto sobre la actividad de agua del chorizo inoculado con
*Staphylococcus aureus***

a) Resultados

Día	R	CMI 0	CMI 0.5	CMI 1	CMI 2
0	1	0.969	0.969	0.968	0.955
	2	0.974	0.969	0.965	0.955
	3	0.978	0.968	0.962	0.954
	Promedio	0.974	0.969	0.965	0.955
	Desvest	0.005	0.001	0.003	0.001
10	1	0.990	0.983	0.973	0.959
	2	0.991	0.981	0.973	0.959
	3	0.991	0.979	0.972	0.958
	Promedio	0.991	0.981	0.973	0.959
	Desvest	0.001	0.002	0.001	0.001
20	1	0.986	0.981	0.971	0.959
	2	0.988	0.980	0.971	0.957
	3	0.989	0.979	0.970	0.955
	Promedio	0.988	0.980	0.971	0.957
	Desvest	0.002	0.001	0.001	0.002

b) ANVA Efectos Principales

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta al cuadrado parcial
Modelo	33.988 ^a	17	2.832	809228.214	.000	1.000
Día	.001	2	.000	102.125	.000	.895
ConcAP	.004	3	.001	344.405	.000	.977
Día *	.000	6	3.060E-005	8.744	.000	.686
ConcAP						
Error	8.400E-005	24	3.500E-006			
Total	33.988	36				

a. R cuadrado = 1.000 (R cuadrado corregida = 1.000)

c) ANVA Efectos Secundarios

Origen	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Día within ConcAP (1)	0.00	2	0.00	70.57	0.000
Día within ConcAP (2)	0.00	2	0.00	1.11	0.342
Día within ConcAP (3)	0.00	2	0.00	0.33	0.720
Día within ConcAP (4)	0.00	2	0.00	0.09	0.916
ConcAP within Día (1)	0.00	3	0.00	1.55	0.221
ConcAP within Día (2)	0.00	3	0.00	6.02	0.002
ConcAP within Día (3)	0.00	3	0.00	5.46	0.004

d) Comparación de Medias

Factor: Día

Prueba DMS

	(I)Día	(J)Día	Diferencia de medias (I-J)	Error tip.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
						Límite inferior	Límite superior
DMS	.00	10.00	-.01025 ^a	.000764	.000	-.01183	-.00867
		20.00	-.00838 ^a	.000764	.000	-.00995	-.00680
	10.00	.00	.01025 ^a	.000764	.000	.00867	.01183
		20.00	.00188 ^a	.000764	.022	.00030	.00345
	20.00	.00	.00838 ^a	.000764	.000	.00680	.00995
		10.00	-.00188 ^a	.000764	.022	-.00345	-.00030

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 3.500E-006.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Prueba de Duncan

	Día	N	Subconjunto		
			1	2	3
Duncan ^{ab}	.00	12	.96538		
	20.00	12		.97375	
	10.00	12			.97563
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 3.500E-006.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 12.000

b. Alfa = .05.

Factor: Concentración de Aji Panca

Prueba DMS

Prueba de Duncan

	Día	N	Subconjunto		
			1	2	3
Duncan ^{ab}	.00	12	.96538		
	20.00	12		.97375	
	10.00	12			.97563
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = 3.500E-006.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 12.000

b. Alfa = .05.

Factor: Concentración de Aji Panca

Prueba DMS

	(I)ConcAP	(J)ConcAP	Diferencia de medias (I-J)	Error tlp.	Sig.	Intervalo de confianza 95%		
						Límite inferior	Límite superior	
DMS	.50	.50	.00733 [*]	.000882	.000	.00551	.00915	
		.00	.01450 [*]	.000882	.000	.01268	.01632	
		2.00	.02717 [*]	.000882	.000	.02535	.02899	
	1.00	.00	-.00733 [*]	.000882	.000	-.00915	-.00551	
		1.00	.00717 [*]	.000882	.000	.00535	.00899	
		2.00	.01983 [*]	.000882	.000	.01801	.02165	
	2.00	.00	-.01450 [*]	.000882	.000	-.01632	-.01268	
		.50	-.00717 [*]	.000882	.000	-.00899	-.00535	
		2.00	.01267 [*]	.000882	.000	.01085	.01449	
		.00	.50	-.02717 [*]	.000882	.000	-.02899	-.02535
			1.00	-.01983 [*]	.000882	.000	-.02165	-.01801
			2.00	-.01267 [*]	.000882	.000	-.01449	-.01085

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = 3.500E-006.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Prueba de Duncan

ConcAP	N	Subconjunto			
		1	2	3	4
2.00	9	.95667			
1.00	9		.96933		
.50	9			.97650	
.00	9				.98383
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 3.500E-006.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 9.000

b. Alfa = .05.

e) Prueba de Normalidad: Kolmogorov-Smirnov

Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
La distribución de Aw es normal con la media 0.972 y la desviación típica 0.01	Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra	.739	Retener la hipótesis nula

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es .05.

f) Prueba de Homogeneidad de Varianza: Levene

	Estadístico de Levene	g1	g2	Sig.
Aw	7.852	3	32	.055

ANEXO 12: Efecto sobre el %Humedad del chorizo inoculado con *Staphylococcus aureus*

a) Resultados

Día	R	CMI 0	CMI 0.5	CMI 1	CMI 2
0	1	43.50%	45.47%	49.38%	55.75%
	2	42.68%	45.46%	48.71%	55.24%
	3	41.86%	45.45%	48.04%	54.74%
	Promedio	42.68%	45.46%	48.71%	55.24%
	Desvest	0.82%	0.01%	0.67%	0.51%
10	1	41.94%	47.00%	47.76%	55.94%
	2	42.02%	46.20%	48.11%	56.26%
	3	42.10%	45.40%	48.46%	56.57%
	Promedio	42.02%	46.20%	48.11%	56.26%
	Desvest	0.08%	0.80%	0.35%	0.32%
20	1	42.29%	45.83%	48.69%	54.63%
	2	41.99%	45.74%	48.48%	54.95%
	3	41.68%	45.64%	48.28%	55.27%
	Promedio	41.99%	45.74%	48.48%	54.95%
	Desvest	0.31%	0.09%	0.21%	0.32%

b) ANVA Efectos Principales

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Medio cuadrática	F	Sig.	Eta al cuadrado parcial
Modelo	83751.144 ^a	12	6979.262	33620.595	.000	1.000
Día	.791	2	.396	1.906	.170	.137
ConcAP	849.050	3	283.017	1363.352	.000	.994
Día *	4.336	6	.723	3.481	.013	.465
ConcAP						
Error	4.982	24	.208			
Total	83756.126	36				

a. R cuadrado = 1.000 (R cuadrado corregida = 1.000)

c) ANVA Efectos Simples

Origen	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Día within ConcAP (1)	0.92	2	0.46	2.21	0.132
Día within ConcAP (2)	0.84	2	0.42	0.02	0.984
Día within ConcAP (3)	0.55	2	0.28	0.01	0.989
Día within ConcAP (4)	2.82	2	1.41	0.05	0.947
ConcAP within Día (1)	263.17	3	87.72	4.71	0.008
ConcAP within Día (2)	321.30	3	107.10	6.37	0.002
ConcAP within Día (3)	268.92	3	89.64	4.86	0.007

d) Comparación de Medias

Factor: Día

Prueba DMS

(I)Día	(J)Día	Diferencia de medias (I-J)	Error tip.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Límite inferior	Límite superior
DMS	.00	10.00	.1233	.18601	.514	
	20.00	.2342	.18601	.220		
	.00	.1233	.18601	.514		
	20.00	.3375	.18601	.067		
	.00	-.2342	.18601	.220		
	10.00	-.3575	.18601	.067		
	10.00					
	20.00					
	.00					
	10.00					
	20.00					

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = .208.

Prueba de Duncan

Día	N	Subconjunto
		I
20.00	12	47.7892
.00	12	48.0233
10.00	12	48.1467
Sig.		.000

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = .208.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 12.000

b. Alfa = .05.

Factor: Concentración de Aji Panca

Prueba DMS

	(I)ConcAP	(J)ConcAP	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
						Límite inferior	Límite superior
DMS	.00	.50	-3.3700 ^a	.21478	.000	-4.0133	-3.1267
		1.00	-6.2056 ^a	.21478	.000	-6.6488	-5.7623
		2.00	-13.2544 ^a	.21478	.000	-13.6977	-12.8112
	.50	.00	3.3700 ^a	.21478	.000	3.1267	4.0133
		1.00	-2.6356 ^a	.21478	.000	-3.0788	-2.1923
		2.00	-9.6844 ^a	.21478	.000	-10.1277	-9.2412
	1.00	.00	6.2056 ^a	.21478	.000	5.7623	6.6488
		.50	2.6356 ^a	.21478	.000	2.1923	3.0788
		2.00	-7.0489 ^a	.21478	.000	-7.4922	-6.6056
	2.00	.00	13.2544 ^a	.21478	.000	12.8112	13.6977
		.50	9.6844 ^a	.21478	.000	9.2412	10.1277
		1.00	7.0489 ^a	.21478	.000	6.6056	7.4922

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .208.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Prueba de Duncan

ConcAP	N	Subconjunto			
		1	2	3	4
.00	9	42.2289			
.50	9		45.7989		
Duncan ^{ab} 1.00	9			48.4344	
2.00	9				55.4833
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .208.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 9.000

b. Alfa = .05.

e) Prueba de Normalidad: Kolmogorov-Smirnov

Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
La distribución de Humedad es normal con la media 47.986 y la desviación típica 4.95	Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra	.286	Retener la hipótesis nula

Se muestran las significancias asíntóticas. El nivel de significancia es .05.

f) Prueba de Homogeneidad de Varianza: Levene

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Humedad	.928	3	32	.438

ANEXO 13: Crecimiento de *Staphylococcus aureus* en la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria

a) Resultados

Concentración	R1	R2	R3	R4	%Crecimiento	%Inhibición	DesVest.	Intr. Inf.	Intr. Sup.
0	118.95	96.81	92.31	91.93	100.00	0.00	12.85	65.28	104.15
0.5	80.41	70.34	75.93	91.04	79.43	20.57	8.77	63.20	94.71
1	64.93	60.82	62.31	70.71	64.69	35.31	4.36	60.46	85.91
1.5	60.26	54.48	48.32	53.73	54.20	45.80	4.89	56.53	78.32
2	71.64	61.94	62.69	55.78	63.01	36.99	6.53	50.76	72.56
2.5	60.82	45.15	44.78	47.01	49.44	50.56	7.65	43.17	68.62
3	49.07	42.16	43.84	42.91	44.50	55.50	3.12	34.37	65.89
3.5	64.74	60.26	59.51	59.70	61.05	38.95	2.48	24.93	63.80

b) ANVA Efectos Principales

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo	142214,860 ^a	8	17776,857	354,359	,000
ConcAP	142214,860	8	17776,858	354,359	,000
Error	1203,991	24	50,166		
Total	143418,851	32			

a. R cuadrado = ,992 (R cuadrado corregida = ,989)

c) Comparación de Medias

Prueba t de Dunnet (bilateral)^a

(I)ConcAP	(J)ConcAP	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Límite inferior	Límite superior
.50	.00	-20,5700 ^a	5,00831	,002	-34,6645	-6,4755
1,00	.00	-35,3075 ^a	5,00831	,000	-49,4020	-21,2130
1,50	.00	-45,8025 ^a	5,00831	,000	-59,8970	-31,7080
2,00	.00	-36,9875 ^a	5,00831	,000	-51,0820	-22,8930
2,50	.00	-50,5600 ^a	5,00831	,000	-64,6545	-36,4655
3,00	.00	-55,5050 ^a	5,00831	,000	-69,5995	-41,4105
3,50	.00	-38,9475 ^a	5,00831	,000	-53,0420	-24,8530

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = 50,166.

^a. La diferencia de medias es significativa al nivel 0,05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control y lo comparan con todos los demás grupos.

Prueba de Duncan

	ConcAP	N	Subconjunto			
			1	2	3	4
Duncan ^{ab}	3,00	4	44,4950			
	2,50	4	49,4400			
	1,50	4	54,1975	54,1975		
	3,50	4		61,0525		
	2,00	4		63,0125		
	1,00	4		64,6925		
	.50	4			79,4300	
	.00	4				100,0000
	Sig.			,078	,065	1,000

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 50.166.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 4.000

b. Alfa = 0.05.

d) Modelo de Regresión Lineal

Variables introducidas/eliminadas^a

Modelo	Variabes introducidas	Variabes eliminadas	Método
1	ConcAP ^b	.	Introducir

a. Variable dependiente: Crecimiento

b. Todas las variables solicitadas introducidas.

Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error tip. de la estimación
1	.743 ^a	.551	.536	12.30500

a. Variables predictoras: (Constante), ConcAP

ANOVA^a

Modelo	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1 Regresión	5583.287	1	5583.287	36.875	.000 ^b
Residual	4542.391	30	151.413		
Total	10125.680	31			

a. Variable dependiente: Crecimiento

b. Variables predictoras: (Constante), ConcAP

Coefficientes^a

Modelo	Coefficients no estandarizados		Coefficientes tipificados	t	Sig.
	B	Error tip.	Beta		
1 (Constante)	84.717	3.971		21.332	.000
ConcAP	-11.530	1.899	-.743	-6.072	.000

Coefficientes^a

Modelo	Intervalo de confianza de 95.0% para B	
	Límite inferior	Límite superior
1 (Constante)	76.606	92.828
ConcAP	-15.407	-7.652

Variable dependiente: Crecimiento

e) Prueba de Normalidad: Kolmogorov-Smirnov

Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
La distribución de Crecimiento es normal con la media 64.540 y la desviación típica 18.07	Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra	.257	Retener la hipótesis nula

Se muestran las significancias asíntóticas. El nivel de significancia es .05.

f) Prueba de Homogeneidad de Varianza: Levene

	Estadístico de Levene	g1	g2	Sig.
Crecimiento	1.675	7	24	.163

ANEXO 14: Crecimiento de *Escherichia coli* en la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria

a) Resultados

Concentración	R1	R2	R3	R4	%Crecimiento	%Inhibición	DesVest.	Inter. Inf.	Inter. Sup.
0	110.26	95.63	97.41	96.70	100.00	0.00	6.88	55.30	97.26
0.5	56.34	63.25	54.48	52.43	56.62	43.38	4.70	53.77	88.65
1	64.74	49.63	52.05	60.26	56.67	43.33	7.05	51.75	80.53
1.5	46.46	44.96	61.38	61.57	53.59	46.41	9.12	48.87	73.27
2	47.01	65.11	64.93	76.31	63.34	36.66	12.11	44.62	67.38
2.5	50.56	56.72	24.25	47.01	44.64	55.36	14.17	38.73	63.13
3	47.01	53.17	29.66	48.88	44.68	55.32	10.34	31.47	60.25
3.5	34.51	25.93	45.52	51.12	39.27	60.73	11.25	23.35	58.25
4	36.57	43.84	59.51	40.86	45.20	54.80	10.00	14.74	56.70

b) ANVA Efectos Principales

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo	123501.191 ^a	9	13722.355	139.791	.000
ConcAP	123501.191	9	13722.355	139.791	.000
Error	2650.409	27	98.163		
Total	126151.600	36			

a. R cuadrado = .979 (R cuadrado corregido = .972)

c) Comparación de Medias

Prueba t de Dunnet (bilateral)^a

(I)ConcAP	(J)ConcAP	Diferencia de medias (I-J)	Error tip.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Límite inferior	Límite superior
.50	.00	-43.3750 [*]	7.00583	.000	-63.2433	-23.5067
1.00	.00	-43.3300 [*]	7.00583	.000	-63.1983	-23.4617
1.50	.00	-46.4075 [*]	7.00583	.000	-66.2758	-26.5392
2.00	.00	-36.6600 [*]	7.00583	.000	-56.5283	-16.7917
2.50	.00	-55.3650 [*]	7.00583	.000	-75.2333	-35.4967
3.00	.00	-55.3200 [*]	7.00583	.000	-75.1883	-35.4517
3.50	.00	-60.7300 [*]	7.00583	.000	-80.5983	-40.8617
4.00	.00	-54.8050 [*]	7.00583	.000	-74.6733	-34.9367

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 98.163.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control y lo comparan con todos los demás grupos.

Prueba de Duncan

	mg/ml	N	Subconjunto			
			1	2	3	4
Duncan ^{ab}	3.50	4	39.2700			
	2.50	4	44.6350	44.6350		
	3.00	4	44.6800	44.6800		
	4.00	4	45.1950	45.1950		
	1.50	4	53.5925	53.5925	53.5925	
	.50	4		56.6250	56.6250	
	1.00	4		56.6700	56.6700	
	2.00	4			63.3400	
	.00	4				100.0000
	Sig.			.077	.141	.215

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 98.163.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 4.000

b. Alfa = 0.05.

d) Modelo de Regresión Lineal

Variables introducidas/eliminadas^a

Modelo	Variables introducidas	Variables eliminadas	Método
1	ConcAP ^b	.	Introducir

a. Variable dependiente: Crecimiento

b. Todas las variables solicitadas introducidas.

Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregido	Error tip. de la estimación	Estadísticos de cambio	
					Cambio en R cuadrado	Cambio en F
1	.682 ^a	.466	.450	14.43255	.466	29.621

Resumen del modelo

Modelo	Estadísticos de cambio		
	g11	g12	Sig. Cambio en F
1	1 ^a	34	.000

a. Variables predictoras: (Constante), ConcAP

ANOVA^a

Modelo	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
1 Regresión	6170.089	1	6170.089	29.621	.000 ^b
Residual	7682.151	34	208.299		
Total	13252.240	35			

a. Variable dependiente: Crecimiento

b. Variables predictoras: (Constante), ConcAP

Coeficientes^a

Modelo	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes tipificados	t	Sig.
	B	Error tip.	Beta		
1 (Constante)	76.282	4.435		17.199	.000
ConcAP	-10.141	1.863	-.682	-5.443	.000

Coeficientes^a

Modelo	Intervalo de confianza de 95.0% para B	
	Límite inferior	Límite superior
1 (Constante)	67.269	85.296
ConcAP	-13.927	-6.354

a. Variable dependiente: Crecimiento

a) Prueba de Normalidad: Kolmogorov-Smirnov

Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
La distribución de Crecimiento es normal con la media 56.001 y la desviación típica 19.46	Prueba Kolmogorov-Smirnov de una muestra	.189	Retener la hipótesis nula

Se muestran las significancias asíntóticas. El nivel de significancia es .05.

b) Prueba de Homogeneidad de Varianza: Levene

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Crecimiento	0.701	3	28	.683

ANEXO 15: Cálculo de la cantidad de aji Panca en polvo en el chorizo experimental

El cálculo de la cantidad de aji Panca en polvo está relacionado con la concentración mínima inhibitoria encontrada y el contenido de capsaicina. Al ser la capsaicina un compuesto con propiedades microbianas y que caracteriza a los *Capsicum*, se utilizó para encontrar una relación entre el contenido de capsaicina en el aji Panca seco y molido y en la oleoresina. Por lo que el cálculo fue el siguiente:

$$\frac{Y \frac{\text{mg Ext}}{\text{ml Sol}} \cdot \frac{1 \text{ Ext}}{1000 \text{ mg}} \cdot X \frac{\text{mg CAP}}{\text{g Ext}}}{D \frac{\text{g Sol}}{\text{ml Sol}} \cdot Z \frac{\text{mg CAP}}{\text{g aji}}} = \frac{\text{g aji}}{\text{g sol}}$$

→ $\frac{\text{g aji}}{\text{g sol}} \cdot C \text{ g producto} = \text{g aji en polvo totales}$

Donde:

Contenido de capsaicina del extracto (X): 10.074 mg capsaicina/g extracto

Contenido de capsaicina del aji Panca en polvo (Z): 0.248 mg capsaicina/g aji en polvo

CMI (Y): 5.6 mg extracto/ml solución

Densidad de la solución (D): 1.0278 g Solución / ml solución CMI

Cantidad de chorizo (C): 1000 g producto

$$\frac{5.6 \frac{\text{mg Ext}}{\text{ml Sol}} \cdot \frac{1 \text{ Ext}}{1000 \text{ mg}} \cdot 10.074 \frac{\text{mg CAP}}{\text{g Ext}}}{1.0278 \frac{\text{g Sol}}{\text{ml Sol}} \cdot 0.248 \frac{\text{mg CAP}}{\text{g aji}}} = \frac{0.221 \text{g aji}}{\text{g sol}}$$

→ $0.221 \frac{\text{g aji}}{\text{g sol}} \cdot 1000 \text{ g producto} = 221 \text{ g aji en polvo totales}$

ANEXO 16: Intervalos de Confianza para la Curva de CMI

La fórmula para encontrar los intervalos de confianza para el valor medio de Y fue:

$$\hat{Y}_0 \pm t_{(\alpha/2; n-2)} S \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}}}$$

Donde:

\hat{Y}_0 : y estimado, % crecimiento de la cepa.

$$S_{xx} = \sum_{i=1}^n x_i^2 - \frac{(\sum_{i=1}^n x_i)^2}{n}$$

s : Error típico de la estimación (Tabla resumen del modelo).

x_0 : Nivel de concentración de ají Panca

\bar{x} : x promedio

t : *t student* (con $\alpha/2$ nivel de confianza; $n-2$ grados de libertad).

α : nivel de confianza.

n : número de datos.

ANEXO 17: Fichas técnica de la cepa de *Escherichia coli*
(Laboratorio de Microbiología de La Molina Calidad Total)



23/02/2013

Certificate of Quality

Product Name: *E. coli* ATCC 25922 PK/S
Lot Number: 339474

Product Number: R4607050
Expiration Date: 2014-11-30
(YYYYMMDD)

This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality System Regulation, 21 CFR Part 820. Representative samples were tested per Remel Quality Control specifications and were found to meet performance criteria for this product.

Purity:

Standardized aliquots of the rehydrated product are inoculated onto nonselective media and examined for pure growth following the appropriate incubation. Selective and Differential media are also tested where applicable.

Viability And Quantification:

Each organism is recovered from the preserved state within the required time frame and at an acceptable level. Passage number is stated as for the preserved state.

Macroscopic And Microscopic Morphology:

Colony morphology is consistent with documented referenced description. Traditional staining is performed.

Biochemical Analysis:

Organism exhibits characteristic biochemical and/or enzymatic reactions. Automated and/or conventional testing was performed and results were within established limits. Antimicrobial testing performed where applicable. Results within expected ranges.

CFU/loop: >10⁶

Passage: 3

Oxam Reaction: Oxam Negative Red

Biochemical Profile: API 38E

Appearance: Preserved Gel Matrix suspended in inoculating loop

pH: N/A

Signed:

Quality Control Supervisor

ANEXO 18: Fichas técnica de la cepa de *Staphylococcus aureus*
(Laboratorio de Microbiología de La Molina Calidad Total)

remel

Certificate of Quality

Product Name: *S. aureus* ATCC 25923 PK/5
Lot Number: 230840

Product Number: R4607010
Expiration Date: 2014-02-28
(TTY-884.00)

This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality System Regulation, 21 CFR Part 820. Representative samples were tested per Remel Quality Control specifications and were found to meet performance criteria for this product.

Purity:

Standardized aliquots of the rehydrated product are inoculated into non-selective media and examined for pure growth following the appropriate incubation. Selective and Differential media are also used when applicable.

Viability And Quantification:

Each organism is recovered from the preserved mass within the required time frame and at an acceptable level. Passage number is stated in the current preserved mass.

Macroscopic And Microscopic Morphology:

Colony morphology is consistent with documented reference description. Traditional staining is performed.

Biochemical Analysis:

Organism exhibits characteristic biochemical and/or enzymatic reactions. Automated and/or conventional testing was performed and results were within established limits. Antimicrobial testing performed where applicable. Results within expected ranges.

CFU/loop: >10(4) Passage: 3
Gram Reaction: Gram Positive Cocci Biochemical Profile: Vitek GPI

Appearance: Preserved Gel Matrix suspended in inoculating loop
pH: N/A

Signy



Quality Control Supervisor

Anexo 19: Ficha técnica del Caldo Mueller-Hinton (DIFCO)

Mueller Hinton Broth (Not Cation-Adjusted)

Intended Use

Mueller Hinton Broth is a general purpose medium that may be used in the cultivation of a wide variety of bacteria and some fungal microorganisms. This medium is not supplemented with calcium or magnesium ions.

Summary and Explanation

The Mueller Hinton formulation was originally developed as a simple, transparent agar medium for the cultivation of pathogenic *Neisseria*.¹ Other media were developed that replicated the use of Mueller Hinton Agar for the cultivation of pathogenic *Neisseria*, but a heavier solids used in the demonstration of color-change reactions of gram-stain and other organisms. It is now used as a test medium for aerobically nonpathogenic¹

Mueller Hinton Broth, not cation-adjusted, has a formula similar to that of the solid medium, but without agar, for use when the final medium is prepared. While it may be used for the general cultivation of bacteria, for consistency, cation-adjusted Mueller Hinton Broth is now recommended for detection and/or enumeration of antibiotic sensitivity of most medically important aerobic and facultatively anaerobic

bacteria.¹ BBL™ Mueller Hinton II broth is cation-adjusted to the calcium and magnesium ion concentrations recommended in the CLSI standard M7.²

This™ Mueller Hinton Broth, not cation-adjusted, is formulated to have a low nitrogen and phosphate content. It may be used for broth dilution antimicrobial susceptibility testing as long as the calcium and magnesium ion concentrations are adjusted according to CLSI standard M7.²

BBL™ Mueller Hinton Broth, not cation-adjusted, has not been formulated to have a low thymine and thymidine content. It may be used for the general cultivation of bacteria.

Principles of the Procedure

Acidophosphate (liquid) of amino acid base cation supply serves with other nitrogen, vitamins, calcium, iron, and other nutrients to support the growth of microorganisms. Serch with as a protective colloid against toxic substances that may be present in the medium. Hydrolysis of the starch during incubating period is a visual measure of bacteria, which is a source of energy.

User Quality Control

See E. *Enterococcus* in the Identity Specifications and Color of Suspensions and Color of Colonies sections for media stored at both 4°C and 30°C. Verify that any other organisms in the environment and hospital needs for internal and clinical applications per the relevant instructions.

Identity Specifications	
Media: Mueller Hinton Broth	
Adapted equipment:	light bags, back-bag, 500 mg and 100 mg test ports
Solution:	1.7% solution, soluble in purified water upon boiling. Solution is stable in light, but may lose light protection.
Prepared equipment:	very light action, clean, very low & light program.
Reaction at 25°C:	pink to red color
CLSI M7:	1.5-3.0 mg
Magnesium:	12.5-2 mg

Cultural Response

DIFCO™ Mueller Hinton Broth
Requires the medium per label directions, a representative pathogen and requires incubation according to CLSI standard M7.² Requires both cations (Calcium and Magnesium) levels for maximum blood medium and results as recommended by CLSI.² Contains the LDC Thymine concentration of 0.00015 mg/ml (0.00015 mg/ml) of the solid formulation of 4.4% serum, which is based on the CLSI standard.²

Organism	ATCC™
Staphylococcus aureus	2972
Escherichia coli	3022
Pseudomonas aeruginosa	27853
Streptococcus aureus	29212

Identity Specifications	
Media: Mueller Hinton Broth	
Adapted equipment:	500 mg back-bag, 500 mg test ports, 100 mg test ports
Solution:	1.7% solution, soluble in purified water upon boiling. Solution is stable in light, but may lose light protection.
Prepared equipment:	very light action, clean, very low & light program.
Reaction at 25°C:	pink to red color
CLSI M7:	1.5-3.0 mg

Cultural Response

BBL™ Mueller Hinton Broth
Requires the medium per label directions, possible and requires incubation at 35 ± 2°C for 18-24 hours (up to 27 hours, if necessary).

Organism	ATCC™	Accession No.	Response
Staphylococcus aureus	DIF 2	5.92	Good
Staphylococcus aureus	11118	5.92	Good
Escherichia coli	12228	5.92	Good
Pseudomonas aeruginosa	27853	5.92	Good
Streptococcus aureus	29212	5.92	Good

Formulae

Difco™ Mueller Hinton Broth

Approximate Formula ¹ Per Liter	
Beef Extract Powder.....	2.0 g
Acid Digest of Casein.....	17.5 g
Starch.....	1.5 g

BBL™ Mueller Hinton Broth

Approximate Formula ² Per Liter	
Beef Extract.....	2.0 g
Acid Hydrolyzate of Casein.....	17.5 g
Starch.....	1.5 g

¹As published and ²as reported in separate control performance studies.

Directions for Preparation from Dehydrated Product

1. Suspend the powder in 1 L of purified water:
Difco™ Mueller Hinton Broth - 21 g
BBL™ Mueller Hinton Broth - 22 g.
Mix thoroughly.
2. Heat with frequent agitation and boil for 1 minute to completely dissolve the powder.
3. Autoclave at 116-121°C for 10-15 minutes (as each product label). DO NOT OVERHEAT.
4. Check prepared medium to ensure the final pH is 7.3 ± 0.1 at 25°C.
5. Test samples of the finished product for performance using stable, typical control cultures.

Procedure

For a complete discussion on broth dilution antimicrobial susceptibility testing, refer to the appropriate procedures outlined in the references.^{3,4}

Organisms to be subcultured must first be isolated in pure culture on an appropriate solid medium. Transfer growth from the isolation medium to Mueller Hinton Broth using standard bacteriologic techniques.⁵

For enrichment purposes, inoculate the specimen onto primary media and then into the broth, according to recommended procedures.

Inoculate the tubes at 35°C under conditions appropriate for the organism being cultured.

Expected Results

For broth dilution antimicrobial susceptibility testing, refer to appropriate references for results.^{3,4}

Growth in broth media is indicated by the presence of turbidity compared with an un-inoculated control.

References

1. *Methods in Microbiology*, 1961, 9th Edition, Vol. 6, 41-59.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2010. *Approved Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Bacteria that Grow Aerobically*, 10th ed. CLSI, Wayne, Pa.
3. Murray, Peter, Tenover, Lesley and Tenover, J.C. 2007. *Manual of clinical microbiology*, 9th ed. American Society for Microbiology, Washington, DC.
4. Tenover, John and Tenover, J.C. 2007. *Antimicrobial susceptibility testing of bacteria*, 2nd ed. ASM Press.
5. Murray and Tenover (ed.) 2004. *Antimicrobial susceptibility methods*, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, DC.

Availability

Difco™ Mueller Hinton Broth (Not cation-adjusted)

CLSI

Cat. No.	1 P0710	Dehydrated - 500 g
	1 P0718	Dehydrated - 2 kg

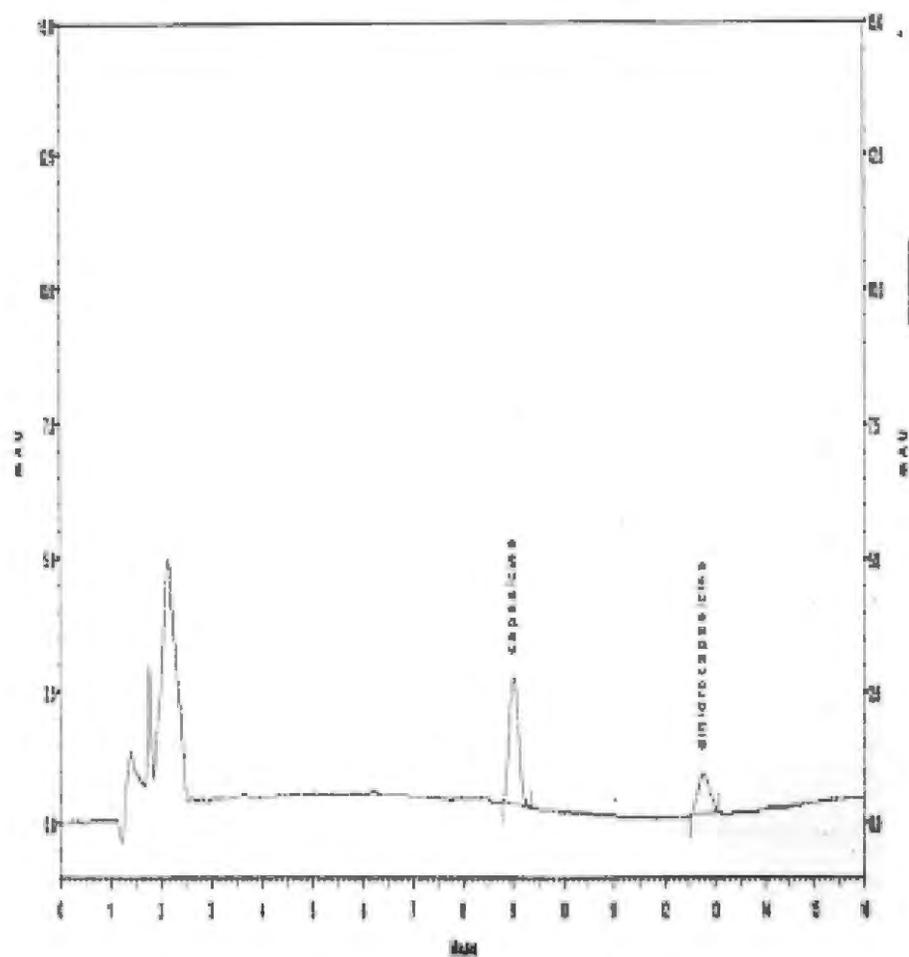
BBL™ Mueller Hinton Broth (Not cation-adjusted)

Cat. No.	21 M42	Dehydrated - 500 g
	208195	Prepared Tubes, 2 mL (E Tubes) - Pkg. of 10
	208164	Prepared Tubes, 2 mL (E Tubes) - Ctn. of 100
	207210	Prepared Tubes, 5 mL (C Tubes) - Pkg. of 10
	208204	Prepared Tubes, 5 mL (C Tubes) - Ctn. of 100

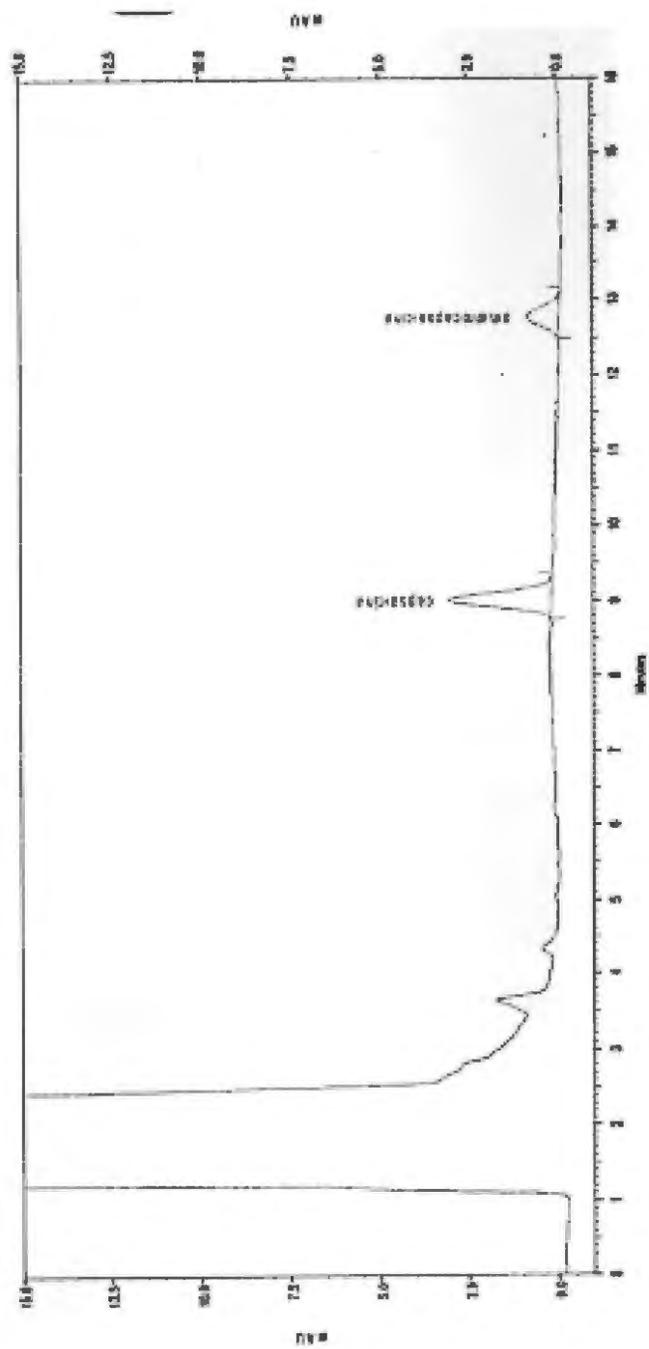
Europa

Cat. No.	157101	Prepared Borden, 800 mL - Pkg. of 4
----------	--------	-------------------------------------

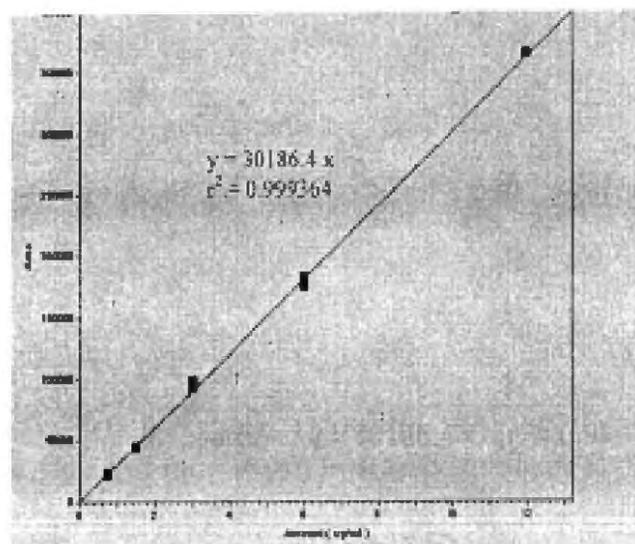
ANEXO 20: Cromatograma HPLC de electroresina de Aji Panca



ANEXO 21: Cromatograma HPLC de Aji Panca en polvo



ANEXO 22: Curvas de Calibración de Capsaicina



ANEXO 23: Curva de Calibración de Dihidrocapsaicina

