

Supervivencia de *Staphylococcus aureus* en crema huancaína preparada con diferentes concentraciones de *Capsicum annum* var. *Longum* "ají escabeche"

Luis A. Llenque Díaz¹, Rosa E. Otiniano Medina¹, Luis Otiniano Medina¹

¹Departamento de Microbiología y Parasitología, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo- Perú; lullediaz@yahoo.com

Recibido: 26-07-13

Aceptado: 30-09-13

RESUMEN

Se ha estudiado el efecto de *Capsicum annum* var. *Longum* "ají escabeche" sobre la supervivencia *in vitro* de la bacteria *Staphylococcus aureus* en crema huancaína, uno de los platos típicos de la gastronomía peruana. La crema fue preparada por separado según receta culinaria artesanal. El ají escabeche fue licuado con venas y sin pepas. Ambas preparaciones se colocaron en recipientes estériles y se pasteurizaron a 65°C por 30 min en baño María. Luego, por triplicado, se implementaron 4 sistemas de ensayo utilizando frascos de vidrio estériles: Sistema 1: 300g de crema de ensayo (Control); sistema 2: 240g de crema de ensayo con 60g de crema de ají (20%); sistema 3: 225g de crema de ensayo con 75g de crema de ají (25%) y sistema 4: 210g de crema de ensayo con 90g de crema de ají (30%). Finalmente, cada frasco se inoculó con 5 mL de suspensión bacteriana de *S. aureus*, equivalente al tubo N° 1 del nefelómetro de Mac Farland (3×10^8 UFC/mL). A las 0, 12, 24 y 36 horas de incubación en condiciones de refrigeración (4°C) se extrajeron 10g de crema homogeneizada de cada sistema de ensayo y se diluyó con 90 mL de diluyente citratado. De estos se hicieron diluciones al décimo y fueron sembradas en placas con agar nutritivo y se incubó a 37° C por 24 h. Se elaboró las curvas de supervivencia de *S. aureus* y fueron analizados mediante prueba de comparación de media Tukey. Se apreció una disminución del crecimiento de *S. aureus* frente a las concentraciones de 20%, 25% y 30 % de "ají escabeche" pero no hubo diferencias significativas entre ellas. En conclusión, en la crema huancaína, *Capsicum annum* var. *Longum* "ají escabeche" tuvo un efecto inhibitorio del crecimiento de *S. aureus* en condiciones de refrigeración.

Palabras clave: *Capsicum annum* var. *Longum* "ají escabeche", supervivencia de *Staphylococcus aureus*, crema huancaína.

ABSTRACT

The effect of *Capsicum annum* var. *Longum* "aji escabeche" on the survival of *Staphylococcus aureus in vitro* in "huancaína" cream, a typical Peruvian gastronomy dish has been studied. The "huancaína" cream was prepared separately following the artisanal culinary recipe. The "ají escabeche" was liquefied with veins and seedless; both creams were placed in sterile containers and pasteurized at 65° C for 30 min in a water bath. Then it was implemented 4 test systems using sterile glass flasks: system 1: 300 g of cream's sample (control); system 2: 240 g of cream's sample with 60g of "aji escabeche" cream (20%); System 3: 225 g of cream's sample with 75g of "aji escabeche" cream (25%); and system 4: 210 g of cream's sample with 90g of "aji escabeche" cream (30%). Each flask was Inoculated with 5 mL of bacterial suspension of *S. aureus*, equivalent to tube 1 of the nephelometer of Mac Farland (3×10^8 CFU/mL). At 0, 12, 24 and 36 hours of incubation time under refrigerated (4° C) conditions; 10 g of homogenized cream of each system were extracted and diluted with 90 mL of a citrated diluents. Out of them dilutions to the tenth were made and implanted in nutrient agar plates and incubated at 37° C for 24 h. It was constructed the survival curves of *S. aureus* and the samples analyzed with Tukey media comparison test. It was seen a decrease in the growth of *S. aureus* against the concentration of 20%, 25% and 30% of "aji escabeche"; but there were no significant differences between them. In conclusion, *Capsicum annum* var. *Longum* in "huancaína" cream had an inhibiting growth effect of *S. aureus* in refrigerated conditions.

Keywords: *Capsicum annum* var. *Longum* "aji escabeche", *Staphylococcus aureus* survival, huancaína cream.

I. INTRODUCCIÓN

Todas las personas tienen derecho a esperar que los alimentos que comen sean inocuos y aptos para el consumo. Las enfermedades de transmisión alimentaria y los daños provocados por los alimentos son, en el mejor de los casos, desagradables, y en el peor pueden ser fatales. Pero hay, además, otras consecuencias. Los brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos pueden perjudicar al comercio y al turismo y provocar pérdidas de ingresos, desempleo y pleitos. El deterioro de los alimentos ocasiona pérdidas, es costoso y puede influir negativamente en el comercio y en la confianza de los consumidores (OMS y FAO, 2009: 3). La higiene de los alimentos comprende el conjunto de condiciones y medidas necesarias para garantizar la seguridad y salubridad de los productos alimentarios, incluida la manipulación por el consumidor desde el momento en que adquiere el alimento en un punto de venta hasta que lo prepara y consume (OMS y FAO, 2009: 4). Según el Instituto de Nutrición para Centroamérica y Panamá (INCAP), la Seguridad Alimentaria Nutricional es un estado en el cual todas las personas gozan, en forma oportuna y permanente, de acceso físico, económico y social a los alimentos que necesitan, en cantidad y calidad, para su adecuado consumo y utilización biológica, garantizándoles un estado de bienestar general que coadyuve al logro de su desarrollo (PESA, 2012: 3).

Los sistemas de producción, elaboración y comercialización de los alimentos son complejos. En muchos países en desarrollo son también muy fragmentarios y dependen de un gran número de pequeños productores. Ello puede presentar ventajas socioeconómicas, ya que gran cantidad de alimentos pasan a través de una multitud de manipuladores de los alimentos e intermediarios, pero incrementa también el riesgo de exposición de los alimentos a entornos poco higiénicos, a la contaminación y a la adulteración. Se presentan problemas como consecuencia de la inadecuada manipulación, elaboración y almacenamiento de los alimentos después de la cosecha, y también por la insuficiencia de instalaciones e infraestructura, como la ausencia o escasez de servicios de agua potable, electricidad, almacenes, incluidos los almacenes en frío, servicios y redes de transporte, etc. Además, la mayoría de los productores y manipuladores de alimentos no tienen los conocimientos ni la especialización que se requieren para la aplicación de las modernas prácticas agrícolas, la higiene alimentaria y las prácticas recomendables de manipulación de los alimentos (OMS y FAO, 2011: 22).

Una correcta higiene de los alimentos está determinada por multitud de factores: condiciones de obtención de los mismos, características de los medios empleados para su transporte, temperaturas y condiciones de conservación, estructura de los locales donde se manipulan los alimentos, y la higiene de los manipuladores de alimentos (Pérez, 1998:70). Todos los factores citados se vigilan y controlan a lo largo del proceso de obtención y manipulación de alimentos comerciales. Una vez que el alimento está listo para su consumo, su análisis microbiológico puede informarnos acerca del resultado real de todo el proceso, ya que la presencia de determinados microorganismos en los alimentos es una medida de su calidad sanitaria y además un indicador de la incorrección de las manipulaciones efectuadas, según lo estableció el Comité Internacional de Normas Microbiológicas para Alimentos de *The International Commission Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF, 1998: 520).

Se han descrito alrededor de 200 enfermedades de transmisión alimentaria cuya etiología incluye bacterias, virus, hongos, parásitos, productos químicos y toxinas de origen vegetal y animal (Zúñiga, 1994:23). Debido a la naturaleza de las enfermedades transmitidas por alimentos, la población que se encuentra en una mayor situación de riesgo es aquella que está constantemente expuesta a alimentos potencialmente contaminados, ya sea por necesidad o por falta de información, y que por su estado de salud, aunque no necesariamente enferma; esta población comprende, por lo general, a individuos pertenecientes a los estratos sociales más bajos que se ven forzados a consumir alimentos de inocuidad dudosa o por aquellos que deciden, conscientemente o no, consumir estos productos; por aquellos que presentan un sistema inmunológico reprimido o inmaduro incluyendo niños, ancianos y mujeres embarazadas o aquellos que están inmunocomprometidos por enfermedades o medicamentos como es el caso de la quimioterapia para los pacientes de cáncer (Domínguez, 2009: 139).

Las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) se definen como el conjunto de signos originados por el consumo de productos alimenticios o ingredientes, especies, bebidas o agua que contienen cantidades suficientes de sustancias tóxicas o gérmenes patógenos. Estas enfermedades denominadas toxiinfecciones alimentarias con frecuencia pueden clasificarse como intoxicaciones e infecciones según el tipo causal; la mayoría tienen origen en deficiencias en los procesos de elaboración, almacenamiento, distribución y consumo de los alimentos. Sin embargo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) informa que sobre 1300 millones de casos anuales de diarrea aguda en niños menores de 5 años, de los cuales mueren de 4 a 5 millones, se calcula que hasta el 70% de estos casos es provocado por alimentos contaminados, lo que da una idea de la magnitud del problema (Herrarte, 2004: 32).

Las bacterias responsables pueden hallarse presentes en los alimentos crudos, y en los cocidos debido a una defectuosa preparación, cocción o almacenamiento, y se multiplican haciendo que un alimento sea peligroso para la salud. No todas las bacterias que deterioran los alimentos causan intoxicaciones alimentarias, tampoco las bacterias productoras de intoxicaciones alimentarias causan siempre alteraciones visibles en los alimentos, aun cuando se hallan presentes en cantidades enormes. El objetivo de la higiene en este sentido es garantizar la producción y servicio de alimentos que sean inocuos y limpios (Díaz et.al, 2009: 12). Así tenemos que, el Sistema de Información Regional para la Vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos, del Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis (INPPAZ), informó que en el Perú entre los años 1993 y 2001 se registraron 12 brotes de enfermedades producidas por el consumo de productos lácteos, los cuales comprendieron 11,5% del total de casos de enfermedades transmitidas por alimentos en esos años. Estos brotes afectaron a 1278 personas (de ellas, 24 fallecieron) y se encontraron como agentes causales a *Salmonella* spp. (30,2%), *S. typhi* (9,5%), *Staphylococcus aureus* (1,6%), *Shigella* spp. (1,6%), *Shigella sonnei* (1,6%) y otras enterobacterias (1,6%), haciendo un total del 58,7% los brotes fueron causados por bacterias (Sirveta, 2004: 19).

Staphylococcus aureus es un microorganismo de gran importancia médica y desde hace muchos años se le ha reconocido como uno de los principales agentes patógenos para el humano, forma parte de la familia *Micrococcaceae*, el cual contiene más de 30 especies diferentes y muchas de éstas son habitantes naturales de la piel y las membranas mucosas del hombre, se caracteriza por ser un coco, Gram positivo, no móvil, puede encontrarse solo, en pares, en cadenas cortas o en racimos, anaerobio facultativo, pero crece mejor en condiciones aerobias, produce catalasa, coagulasa y crece rápidamente en agar sangre, sus colonias miden de 1 a 3 mm, producen un típico pigmento amarillo debido a la presencia de carotenoides y muchas cepas producen hemólisis a las 24-36 horas (Perdomo, 2004: 62). Posee un alto grado de patogenicidad y es responsable de una amplia gama de enfermedades, produce lesiones superficiales de la piel y abscesos localizados en otros sitios, causa infecciones del sistema nervioso central e infecciones profundas como osteomielitis y endocarditis, es causante de infecciones respiratorias como neumonía, infecciones del tracto urinario y es la principal causa de infecciones nosocomiales, provoca intoxicación alimentaria al liberar sus enterotoxinas en los alimentos y produce el síndrome del shock tóxico al liberar superantígenos en el torrente sanguíneo, además, causa septicemia, impétigo y fiebres (Vázquez, 2010: 35).

Las infecciones por *S. aureus* comienzan por la llamada colonización, la cual puede ocurrir tanto en niños como en adultos. La bacteria se encuentra generalmente en las fosas nasales y en ocasiones en la piel o en la ropa, y de estos sitios puede transmitirse a otras regiones del cuerpo o membranas mucosas. Si la piel o mucosas se rompen por trauma o cirugía, la bacteria que es un patógeno oportunista, puede acceder al tejido cercano a la herida provocando daño local o enfermedades de amplio espectro. Antes del uso de los antibióticos una bacteriemia causada por esta bacteria producía una mortalidad aproximada del 82%. Aún ahora este porcentaje permanece elevado, entre el 25 y 63% (Vázquez, 2010: 42), y en años recientes han reemergido las infecciones por que la bacteria se ha vuelto resistente a los antibióticos con los que normalmente se le combate, aumentando su diseminación en la población sana (Cristóbal, 2003: 162). Si bien es cierto que estafilococos existan, al menos en pequeñas cantidades, en cualquier producto alimenticio o en todos los que son de origen animal o en los que son manipulados directamente por personas, se ha demostrado que los alimentos frecuentemente implicados en casos de intoxicación estafilocócica son el jamón, los embutidos, los productos de pastelería rellenos de crema, helados, carne de mamíferos

y aves cocinada, queso, natillas, leche en polvo y ensaladas; y en el Perú, se señala la presencia de *S. aureus* coagulasa positivo en queso fresco, queso mantecoso, carne fresca y en ceviches de pescado (Alvarado, 1988: 42).

Existen dos grandes grupos de medidas de control de las enfermedades, las preventivas que involucran las buenas prácticas de producción, manejo y consumo de los alimentos, y las correctivas dentro de las cuales se encuentran los tratamientos con antibióticos y antimicrobianos. Las medidas más eficaces para el control de las infecciones por microorganismos en general, son las barreras que limitan su proliferación. Entre las precauciones habituales figura el lavado de las manos antes y después de cualquier contacto con alimentos o personas infectadas. A nivel industrial se recomienda las buenas prácticas en el manejo de los alimentos así como la vigilancia por parte de personal adecuado instruido en las técnicas referidas por la HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points). El sistema HACCP enfatiza el control del proceso, concentra el control en los puntos críticos para la inocuidad del producto, valoriza la comunicación entre la industria y la inspección. Se trata de un sistema preventivo y no correctivo, es una herramienta utilizada para proteger los alimentos de peligros biológicos, químicos y físicos (Masatcioglu y Avsar, 2005: 1488).

La búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos tiende a enfocarse hacia agentes con nuevos mecanismos de acción que sean capaces de evadir los mecanismos de resistencia bacteriana actuales; de la misma forma, el surgimiento y transmisión de cepas con resistencia a los glucopéptidos, hace urgente la prioridad en el desarrollo de estrategias de tratamiento y la creación de nuevos fármacos para el control en la diseminación de *S. aureus* resistente a la meticilina (MRSA por sus siglas en inglés). En un esfuerzo por detener esta diseminación y el incremento en la incidencia de la resistencia a los antibióticos, la industria farmacéutica y de los alimentos ha invertido importantes recursos en la búsqueda de nuevos compuestos inhibitorios de origen microbiano vegetal y animal. Entre las alternativas de grandes alcances para controlar o inhibir la actividad de microorganismos en general y patógenos en particular, se encuentran los extractos y aceites esenciales provenientes de diferentes plantas u órganos de éstas (OPS, 2002: 18).

La familia Solanaceae, incluye al género *Capsicum*. Dentro de este grupo están pimientos dulces, tabascos, paprika, y habaneros. El género *Capsicum*, que incluye entre 20 a 30 especies, tiene su centro de origen en las regiones tropicales y subtropicales de América. Al menos cinco de sus especies son cultivadas en mayor o menor grado pero, casi la totalidad de la producción de ají y pimiento está dada por una sola especie, *Capsicum annuum*; todos los ajíes contienen un alcaloide cristalino conocido como capsaicina, responsable del sabor picante (Deis, 1999: 25). La capsaicina es una sustancia alcalina y aceitosa, soluble en agua, que solamente está presente en la placenta de los frutos, químicamente es 8-metil-N-vainillil-6-enamida. La capsaicina y dihidrocapsaicina forman 80 % para 90 % de los capsaicinoides en ajíes, y son lo más pungente de los capsaicinoides. Además de capsaicina, también son una buena fuente de minerales incluyendo tiamina, hierro y magnesio, y de vitaminas (A, B, C, E), niacina, riboflavina y beta-caroteno (Iza y Quispe, 2010: 32).

La capsaicina tiene una historia sustanciosa en medicina alternativa, y un número de usos ha sido citado, ha sido notable por sus propiedades antimicrobianas (Iza y Quispe, 2010:36-38). Sus usos medicinales: está en desarrollo un remedio para artritis basado en un receptor iónico proteico que se liga a la capsaicina para sobrellevar dolores crónicos; el consumo de ají picante incrementa la circulación periférica y disminuye la presión arterial; los ajíes son ricos en vitaminas A y C y bioflavonoides, todos necesarios para un óptimo crecimiento celular, y contribuyen a la elasticidad de las paredes de los vasos sanguíneos; los ajíes también son excelentes secuestradores de radicales libres y proveen una mejora momentánea del sistema metabólico; y la transpiración que provoca el consumo de picantes induce pérdida de agua que temporalmente reduce el volumen total de sangre (Neumann, 2004: 64).

Se han realizados estudios para determinar los efectos acumulativos de condimentos (la pimienta de chile, el tomillo, el comino, la nuez moscada, la pimienta inglesa, la canela, la pimienta negra, sal, y el pimiento rojo caliente), en condiciones de almacenamiento; y el tiempo de almacenamiento en la supervivencia de *S. aureus* en queso Sürk y monitorear los cambios químicos asociados; así el queso Sürk, queso turco tradicional, producido por calentamiento de yogurt con poca grasa diluida y

añadiendo condimentos para la cuajada ácido resultante, fue inoculado con *S. aureus*, y guardado aeróbicamente para modelo de crecimiento y anaeróbicamente en aceite de oliva por 30 días en la temperatura del cuarto; la humedad contenida del queso aeróbicamente almacenado disminuyó con el paso del tiempo y se dirigió a los incrementos en sólidos totales, sal y la ceniza contenida durante la maduración ($P < 0.05$); la presencia o la ausencia de los condimentos no tuvo efecto significativo, considerando las condiciones de almacenamiento y la duración de almacenamiento disminuyó la supervivencia de *S. aureus* (Masatcioglu y Avsar, 2005: 1491).

El efecto inhibitorio de tres chilli (*Capsicum annum*) en contra de *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *Salmonella typhimurium* y *B. cereus* fue investigado; los extractos de habanero, serrano y las pimientas del morrón pimienta, fueron incluidos y todos ellos inhibieron el crecimiento de las cuatro bacterias. *Listeria* fue la más sensible y *Salmonella* la más resistente, esto debido a la presencia de algunos capsaicinoides y sus precursores en los extractos como inhibidores microbianos. Los fenilpropanoides identificados fueron: capsaicina, dihidrocapsaicina, ácido cinámico, ácido *m-coumarico* y ácido *o-coumarico*, en conclusión los ácidos cinámico y *m-coumarico* en los extractos del chilli contribuyeron a la inhibición de las cuatro bacterias (Brandy, 2004: 53-55).

Otro estudio sobre las propiedades antimicrobianas de pimientas de Chile, realizadas en una inspección en una farmacia maya reveló que los tejidos finos de especies *Capsicum* (Solanaceae) son incluidos en un número de remedios de hierbas para una variedad de dolencias de origen microbiano probable (Cichewicz y Thorpe, 1996: 65). Usando una prueba del disco del filtro a los extractos simples y calientes y acuosos de frescos *Capsicum annum*, *Capsicum baccatum*, *Capsicum chinense*, *Capsicum frutescens*, y variedades de *Capsicum pubescens* fueron probados para sus efectos antimicrobianos con quince especies bacterianas y una especie de levadura; dos compuestos acres encontrados en las especies *Capsicum* (capsaicina y dihidrocapsaicina) fueron también probados para sus efectos antimicrobianos y se encontró que los extractos simples y calientes exhibían varios grados de inhibición contra *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Clostridium sporogenes*, *C. tetani*, y *Streptococcus pyogenes* (Perdomo, 2004: 84).

La capsaicina presente en *Capsicum annum* var. *Longum* "ají escabeche" es materia prima durante la preparación artesanal y comercial de la crema huancaína, plato típico de consumo humano, que podría ayudar a la preservación y conservación de este alimento durante su exhibición en los anaqueles de los centros comerciales de nuestra región.

Por otro lado, las bacterias patógenas de humanos podrían estar presentes en este alimento por malas prácticas de recolección y selección de la materia prima y del proceso mismo de elaboración, envasado y distribución del alimento, constituyendo un gran problema de contaminación microbiana por patógenos que afectaría la salud de los consumidores y que disminuirían el tiempo de vida media de dicho alimento, constituyendo pérdida económica.

En tal sentido, se evaluó el efecto de *Capsicum annum* var. *Longum* a diferentes concentraciones, en la crema huancaína, sobre la supervivencia de *S. aureus* en condiciones de refrigeración (4°C), y se determinó estadísticamente si existe o no diferencia significativa entre las diferentes concentraciones de *C. annum* var. *Longum* "ají escabeche" evaluadas y el sistema control.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. OBJETO DE ESTUDIO

Material Biológico

En esta investigación se ha estudiado un cultivo puro de la bacteria *Staphylococcus aureus* en crema huancaína preparada artesanalmente.

La bacteria *Staphylococcus aureus* fue proporcionado por el Laboratorio de Microbiología y Tecnología de Alimentos de la Universidad Nacional de Trujillo, Perú.

La crema de ají escabeche de la crema huancaína también fue preparada artesanalmente.

2.2. MÉTODOS Y TÉCNICAS

Preparación y pasteurización de la crema de ensayo

La crema huancaína se preparó según receta culinaria artesanal (Se licuó 50 g de queso mantecoso, 250 mL de leche evaporada, 1 paquete de 12 galletas de soda y sal al gusto) y se distribuyó en porciones correspondientes según ensayo en recipientes de vidrio. Se pasteurizó calentando la crema a 65° C por 30 min en baño María y luego se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Preparación y pasteurización de la crema de ají

Se licuó 300 g de ají escabeche (con venas y sin pepas) por 5 min y se colocó en un recipiente estéril, se pasteurizó en baño María, 65° C por 30 min, y se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Preparación del inóculo de *S. aureus*

De un cultivo joven (18 h) reactivado, se realizó una suspensión bacteriana en agua destilada, y se estandarizó a una concentración equivalente a 3×10^8 UFC/mL, utilizando el tubo N° 1 de Mac Farland.

Sistemas de ensayo

Se prepararon 4 sistemas de ensayo (recipientes) de acuerdo al siguiente esquema de trabajo:

- Sistema 1: Ají, 0 %, 300 g de crema preparada
- Sistema 2: Ají 20%, 240 g de crema y 60 g de ají
- Sistema 3: Ají 25%, 225 g de crema y 75 g de ají
- Sistema 4: Ají 30%, 210 g de crema y 90 g de ají

Después, se inoculó 5 mL de inóculo bacteriano a cada recipiente, se homogenizó con una bagueta de vidrio y fueron colocados en condiciones de refrigeración (4° C).

A las cero (0) h, se extrajo 10 g de crema huancaína homogenizada del sistema de ensayo a evaluar y se agregó 90 mL de diluyente citratado. Se realizaron diluciones al décimo en tubos de ensayo conteniendo 9 mL de diluyente citratado; y se sembró 0,1 mL de dilución en placas con agar nutritivo, por el método de siembra por superficie, y se llevaron a incubar a 37° C por 24 horas. Se utilizaron dos placas de siembra por dilución. Este procedimiento se repitió a las 12, 24 y 36 horas de incubación, para cada sistema de ensayo. Finalmente se hizo el recuento de las colonias por mL. Este procedimiento se repitió por triplicado.

Presentación y Análisis de datos

Los recuentos de colonias fueron tabulados y se obtuvieron los promedios de las tres repeticiones, y se elaboró las curvas de supervivencia de *S. aureus* en las condiciones evaluadas. Finalmente se aplicó el análisis de varianza (ANAVA) y la prueba de comparación de media Tukey, con un grado significativo de 0.05 (Bausela, 2005: 66; Wayne, 2006: 98).

III. RESULTADOS

En la Figura 1, se observan las curvas de supervivencia de *S. aureus*, en crema huancaína a diferentes concentraciones de *C. annum* var. *Longum* "ají escabeche" en relación al tiempo de incubación en condiciones de refrigeración (4°C). En el sistema 1 (Control, sin ají) se observa el crecimiento de la bacteria; en tanto que, en todas las concentraciones evaluadas se observa inhibición del crecimiento de la bacteria.

En la Figura 2, se muestra los resultados de la aplicación de la prueba de Tukey de los recuentos promedio de UFC/mL de *S. aureus*, en crema huancaína a diferentes concentraciones de *C. annum* var. *Longum* "ají escabeche" en relación al tiempo de incubación en condiciones de refrigeración a 4°C. Se observa que existe diferencia significativa entre el sistema 1 (Control, sin ají) y los sistemas de ensayo 2,3 y 4 (Problemas), existiendo homogeneidad de grupos a nivel de concentraciones.

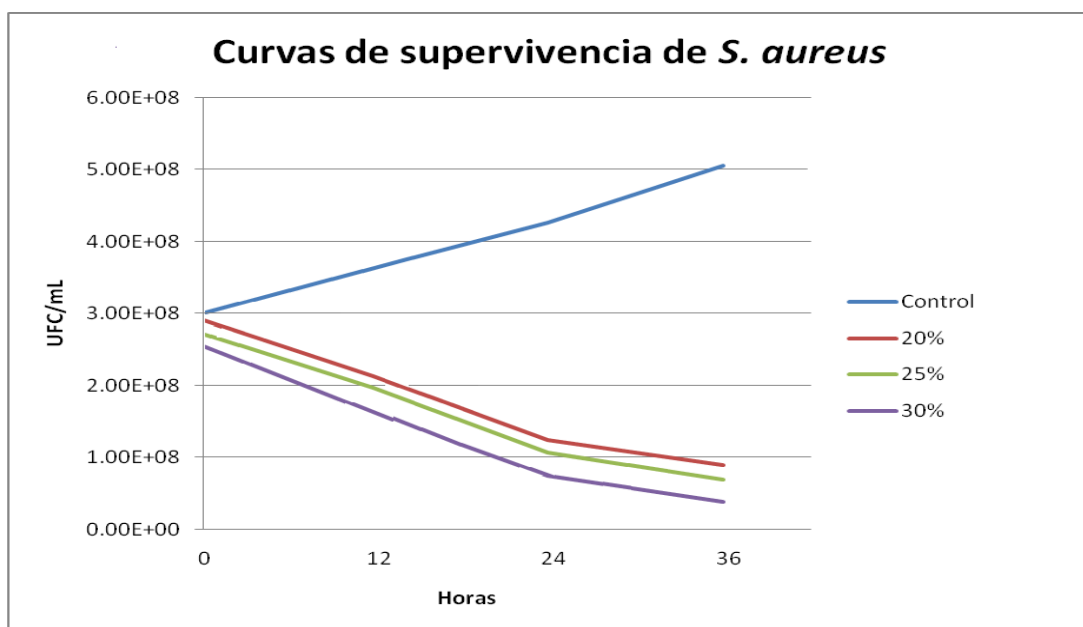


Fig. 1. Supervivencia de *S. aureus*, en crema huancáina a diferentes concentraciones de *C. annum* var. *Longum* "ají escabeche" en relación al tiempo de incubación en condiciones de refrigeración a 4°C.

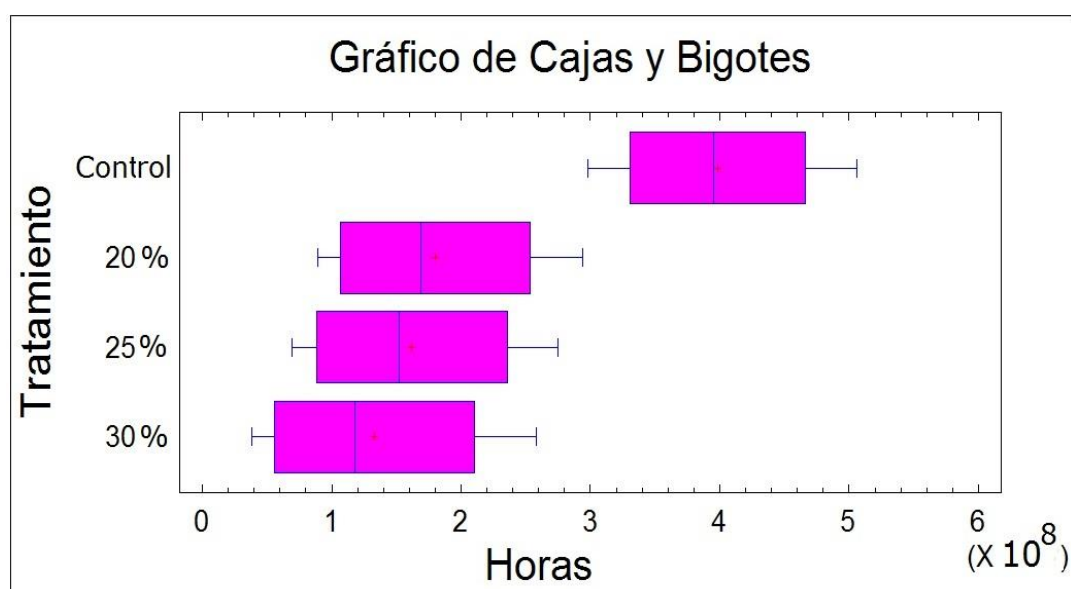


Fig. 2. Prueba de Tukey de los datos de recuentos promedios de UFC/mL de *S. aureus*, en crema huancáina a diferentes concentraciones de *C. annum* var. *Longum* "ají escabeche" en relación al tiempo de incubación en condiciones de refrigeración (4°C).

IV. DISCUSIÓN

Las diferentes concentraciones de *Capsicum annum* var. *Longum* "ají escabeche" evaluadas en la crema huancáina elaborada artesanalmente tuvieron efecto inhibitor sobre la supervivencia de *Staphylococcus aureus*, en crema huancáina en relación al tiempo de incubación a 4°C (Fig. 1), resaltándose que la concentración de 20% de *C. annum* var. *longum* disminuyó el recuento de UFC/mL a medida que pasaban las horas, alcanzando un recuento de 8.90×10^7 UFC/mL a las 36

horas, representando la reducción de un ciclo logarítmico. En el sistema con la concentración de 25% presenta una disminución del crecimiento de *S. aureus* hasta las 36 horas con un recuento de 6.9×10^7 UFC/mL; situación similar ocurrió en el sistema de 30% de *C. annum* var. *Longum* que presenta una máxima disminución en el nivel de supervivencia de *S. aureus* a las 36 horas llegando con un recuento de 3.8×10^7 UFC/mL. Todas las concentraciones tienen la misma tendencia de inhibición del crecimiento del patógeno, siendo evidente desde las primeras horas de incubación, en las condiciones de ensayo evaluadas. En cambio en el sistema Control (sin ají), se observa un incremento del crecimiento hasta las 36 horas (5.06×10^8 UFC/mL) a partir del recuento inicial (2.98×10^8 de UFC/mL).

Los resultados anteriores del efecto de las diferentes concentraciones de *C. annum* var. *Longum* sobre la supervivencia de *S. aureus* en crema huancaína, indican que las condiciones de refrigeración (4° C) no inhibe el crecimiento de la bacteria. Los recuentos de supervivencia de *S. aureus* van disminuyendo progresivamente con cada uno de los tratamientos evaluados (20%, 25% y 30%) hasta las 36 horas conservadas en refrigeración. Investigaciones realizadas, describen a *S. aureus* como una bacteria que crece en altas concentraciones de sal y azúcar, es termoresistente (120°C, 10 – 40 min), el donde el 75% de los brotes es a causa de una insuficiente refrigeración de los alimentos (Cichewicz y Thorpe, 1996: 69); su periodo de incubación es muy corto de 30 minutos a 3 horas, siendo una refrigeración rápida y adecuada de los alimentos menores a 10°C la cual evita la producción de la enterotoxinas (Gómez, 2010:18). También se determinó que las distintas combinaciones de bacteriocinas, en este caso la nisina y un sistema lactoperoxidas (LP) en condiciones de refrigeración, es eficaz en la reducción de los niveles de *S. aureus* en leche refrigerada a 8°C, mientras que a 4°C la nisina ejerció una mayor inhibición de forma individual que en combinación con el sistema LP (Arqués, 2003: 135).

La investigación de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Capsicum chinense* "ají dulce" (ají secado a 100°C) sobre *Bacillus* sp. y *E. coli*, fue para ambos microorganismos de 25% de extracto, en donde también se puede notar que no hubo diferencias significativas ($P > 0,05$) entre 25 y 50% de extracto, lo cual puede ser justificado porque a una concentración de 50% el extracto presenta características bactericidas y a 25% características bacteriostáticas, pero al momento de reportar estos efectos en el crecimiento microbiano en las placas de Petri, solo se observaron halos de inhibición. También se observó que las concentraciones de 75 y 100% de extracto fueron las que presentaron mayor efecto inhibitorio; sin embargo, entre ambas concentraciones no se encontraron diferencias significativas entre ellas (Colivet, et. al, 2006: 175).

Así mismo, se reportó otro hallazgo en este mismo sentido al evaluar el nivel de inhibición que presentan algunas plantas, trabajando con el extracto vegetal de la planta *Passiflora manicata* "diablito", este mostró un efecto inhibitorio mínimo con relación a los demás extractos en presencia del *S. aureus*, observándose también que frente a este microorganismo el extracto que presentó mejor actividad fue el proveniente del árbol *Myrcianthes rhopaloides* "arrayán de los Andes", el cual estuvo más cercano al valor obtenido para el control positivo (mayor poder de inhibir el crecimiento del microorganismo (Lizcano, 2008: 72). Del mismo modo, se realizó estudios del extracto etanólico de semillas de *Brassica oleracea* var. *italica* "brócoli" y el aceite esencial de las bellotas de *Cupressus sempervivens* var. *horizontalis* "ciprés", donde el que presentó mayor nivel de inhibición fue el aceite esencial. Un recuento inicial de 8.8×10^8 UFC/mL de *S. aureus* para ambos casos, después de haber utilizado el extracto etanólico de *Brassica oleracea* var. *italica* "brócoli" se obtuvo un recuento de 2.0×10^8 UFC/mL de *S. aureus* y un 1.0×10^8 UFC/mL al utilizar el aceite esencial de *C. sempervivens* var. *horizontalis* "ciprés" (Vázquez, 2010: 51).

El ANAVA de los recuentos promedios de UFC/mL de *S. aureus*, en crema huancaína a diferentes concentraciones de *C. annum* var. *Longum* "ají escabeche" en relación al tiempo de incubación en condiciones de laboratorio, estableció que existe diferencias entre las medias de los tratamientos. Esto significa estadísticamente que al menos una de las concentraciones de *C. annum* var. *Longum* "ají escabeche", es diferente de las demás. Esto pudiera ser el resultado de diferencias en las fuentes de las materias primas utilizadas y las diferencias en el tiempo que llevaban preparadas las cremas al momento de ser recolectadas para los análisis correspondientes. En la Figura 2 se verifica los resultados de la diferencia significativa de los recuentos promedio de UFC/mL de *S. aureus*,

observándose diferencias significativas, mediante la prueba de Tukey (Bausela, 2005: 69) entre el sistema control y los sistemas con sus respectivas concentraciones de *C. annum* var. *longum* "ají escabeche", y existiendo homogeneidad de grupos a nivel de concentraciones de *C. annum* var. *longum* "ají escabeche" con un nivel de confianza 95.0%.

La prueba estadística de Tukey aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar las medias de los tratamientos que son significativamente diferentes unas de otras; observándose la diferencia estimada entre cada par de medias, entre el control y las concentraciones de 20%, 25% y 30%. La diferencia significativa que existe se presenta solo en 3 pares, que son control - 20%, control - 25% y control - 30%. Caso contrario se presenta en los pares de concentraciones 20% - 25%, 20% - 30% y 25% - 30%; en los cuales no existen diferencias significativas. Caso similar se presenta en los estudios mencionados acerca de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *C. chinense* "ají dulce", donde se presenta que en las diferentes concentraciones existen diferentes niveles de inhibición para el crecimiento de los microorganismos pero sin diferencias significativas, demostrando que el ají tiene efecto bactericida (Colivet, et. al, 2006: 170-172).

Las posibles razones para que el crecimiento de *S. aureus* sea inhibido sería la carencia de mecanismos de resistencia, por ejemplo activación de la síntesis de la pared celular, con hiperproducción de proteínas ligadoras de penicilinas, engrosamiento de la pared y el encarcelamiento de bactericidas por hiperproducción de los componentes de pared; o también a que la bacteria no tuvo las condiciones adecuadas (pH tiempo de exposición y la incubación que se da en refrigeración con temperaturas menores a los 10°C), o concentraciones crecientes de *C. annum* var. *longum* "ají escabeche" (Lizcano, 2008: 36-45). Otro posible mecanismo sería que la bacteria *S. aureus* no crece por la presencia de proteasas, nucleasas y lipasas presentes en los diferentes ingredientes del sistema de ensayo que permitieron despolimerizar las proteínas, los ácidos nucleicos y las grasas de la bacteria (Tavares, 2000: 282).

V. CONCLUSIONES

1. *Capsicum annum* var. *longum* "ají escabeche" en la crema huancaína tuvo un efecto inhibitor sobre la supervivencia de *Staphylococcus aureus* en condiciones de refrigeración (4°C).
2. Las concentraciones de 20, 25 y 30% de *Capsicum annum* var. *longum* "ají escabeche" tuvieron el mismo efecto inhibitor sobre la supervivencia de *Staphylococcus aureus* en las condiciones evaluadas.
3. Existe diferencias significativas del efecto inhibitorio de cada una de las concentraciones de *C. annum* var. *longum* "ají escabeche" evaluadas en relación al sistema control, y no entre una concentración y otra, en las condiciones evaluadas.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVARADO, P. 1988. ***Staphylococcus aureus* coagulasa positivo: aislamiento y cuantificación a partir de embutidos, manos de expendedores, utensilios y superficies.** Trujillo (Perú). Universidad Nacional de Trujillo.
- ARQUÉS, J. 2003. **Tratamientos combinados de bacteriocinas y otros sistemas inhibitorios para la mejora de la seguridad de los productos lácteos.** Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Veterinaria. Departamento de Nutrición y Bromatología III. Madrid. Tesis para optar el Grado de Doctor.
- BAUSELA, E. 2005. **SPSS: Un instrumento de análisis de datos cuantitativos.** Revista de Informática Educativa y Medios Audiovisuales. Vol. 2(4): 62-69
- BRANDY, O. 2004. **Comparison of prophylactic or therapeutic dietary administration of capsaicin oleoresin for resistance to *Salmonella* in broiler chickens.** Blacksburg (Virginia).

- CICHEWICZ, R., THORPE, P. 1996. **The antimicrobial properties of chile peppers (*Capsicum species*) and their uses in Mayan medicine.** J Ethnopharmacology. Vol. 52 (2): 61-70.
- COLIVET, J., BELLOSO G., HURTADO, E. 2006. **Comparación del efecto inhibitor de extractos de ají dulce (*Capsicum chinense*) sobre el crecimiento de *Escherichia coli* y *Bacillus sp.*** Universidad de Oriente. Venezuela. Vol. 18 (2): 168-173.
- CRISTÓBAL, R. 2003. **Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus spp.*** Rev. Panam Salud Pública / Pan Am J Public Health. Vol.14 (3): 158-164
- DEIS, R. 1999. **The Secret World of Spices. Food Product Design.** Disponible en: <http://www.foodproductdesign.com/articles/0899cs.html>; consultado el 28 de Enero, 2012
- DÍAZ, T., VALDÉS, M., CABALLERO, A., MONTERREY, P. 2009. **Enfermedades transmitidas por alimentos. Causas más frecuentes en los niños.** Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos. Hospital Pediátrico "Juan Manuel Márquez". pp.44.
- DOMÍNGUEZ, W. 2009. **Estudios de casos – Enfermedades Transmitidas por Alimentos en Honduras.** 139 – 157.
- GÓMEZ, I. 2010. **Medicina Preventiva y Salud Pública.** Universidad de Cantabria. Toxiinfecciones alimentarias. España.
- HERRARTE, M. 2004. **Detección de toxinas de *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni* y *Staphylococcus aureus* en pollo frito utilizando el método de inmunoensayo.** Universidad Francisco Marroquín – Escuela de Nutrición. Guatemala. Tesis para obtener el grado de Licenciada en Nutrición Clínica. 47 pp
- INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). 1998. Microorganismos de los alimentos. Características de los patógenos microbianos. Acribia. Zaragoza. pp 606.
- IZA, N., QUISPE, M. 2010. **Evaluación del promotor de crecimiento natural a base de ají en la dieta alimenticia de pollo broiler en la calera ciudad de Latacunga provincia de Cotopaxi.** Tesis previa a la obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista. Universidad Técnica de Cotopaxi, Latacunga, Ecuador. pp.104.
- LIZCANO, R. 2008. **Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a microorganismos patógenos y fitopatógenos.** Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá D.C. – Colombia.
- MASATCIOGLU, T., AVSA, Y. 2005. **Effects of flavorings, storage conditions, and storage time on survival of *Staphylococcus aureus* in Sürk cheese.** J Food Prot. Vol. 68 (7): 1487 -91.
- NEUMANN, R. 2004. **Ajís y capsaicina: desde especia, insecticida, defensa personal hasta medicinal.**
- ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD (OPS). 2002. **Inocuidad de los alimentos.** Artículo de Higiene de los Alimentos. Uruguay. 11pp.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS) y ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO). 2009. **Higiene de los alimentos.** Textos Básicos. Cuarta edición. Roma. pp 141
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS) y ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO). 2011. **Garantía de la inocuidad y calidad de los alimentos: directrices para el fortalecimiento de los sistemas nacionales de control de los alimentos.** pp.91

- PERDOMO, I. 2004. **Determinación y aislamiento de *Staphylococcus aureus* y *Clostridium perfringens* enterotoxigénicos a partir de alimentos.** Rev. Col. Cienc. Quím. Farm. Vol. 33 (1): 59 – 69.
- PÉREZ, C. 1998. **Estudio microbiológico de los alimentos elaborados en comedores colectivos de alto riesgo.** Rev. Esp. Salud Pública, Vol. 72 (1): 67 – 75.
- PROGRAMA ESPECIAL PARA LA SEGURIDAD ALIMENTARIA (PESA) – Centroamérica. 2012.
- Seguridad Alimentaria y Nutricional.** Conceptos Básicos. Disponible en:
http://www.mineduc.gob.gt/portal/contenido/menu_lateral/programas/seminario/docs13/SEGURIDAD%20ALIMENTARIA%20Y%20NUTRICIONAL%20ConceptosBasicos.pdf. Citado el 10 de Enero, 2012
- SIRVETA, T. 2004. **Brotos de enfermedades transmitidas por alimentos en América Latina desde 1993 hasta 2003.** Sistema Regional de Vigilancia de Enfermedades Transmitidas por Alimentos. Instituto Panamericano de Protección de Alimentos (INPPAZ) OPS/OMS.
- TAVARES, W. 2000. **Bacterias Gram-positivas problemas: resistencia do estafilococo, do enterococo e do pneumococoas antimicrobianos.** Rev. Soc. Bras. Med. Trop., Uberaba. Vol. 33 (3): 281 - 301.
- VÁZQUEZ, C. 2010. **Actividad antimicrobiana de aceites esenciales de bellotas de ciprés (*Cupressus sempervirens* var. *horizontalis*) y semilla de brócoli (*Brassica oleraceae* var. *italica*) sobre *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.** Universidad Autónoma Metropolitana. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Tesis para obtener el grado de Maestro en Biotecnología.
- WAYNE, D. 2006. **Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud.** México: Limusa S. A.
- ZÚÑIGA, C. 1994. **El control microbiológico de la calidad.** San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica.