





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

Investigación del Poder Bactericida  
del Chile en Microorganismos que  
Atacan a los Alimentos.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A N :

CHAVEZ PALACIOS CLAUDIA  
GARDUÑO ROMAN MARIA GEMA

JURADO ASIGNADO

Presidente: Prof. NATALIA SALCEDO OLAVARRIETA  
Vocal; " ENRIQUE GARCIA GALIANO PEREZ  
Secretario: " EMILIO BARRAGAN HERNANDEZ  
1er. Suplente " ARTURO PEREZ ALONSO  
2do. Suplente " FIDEL FIGUEROA MARTINEZ

Sitio donde se desarrolló el tema:  
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA EXPERIMENTAL  
FACULTAD DE QUIMICA: U.N.A.M.

SUSTENTANTES: CLAUDIA CHAVEZ PALACIOS  
MARIA GEMA GARDUÑO ROMAN

Asesor del tema: C. NATALIA SALCEDO OLAVARRIETA

Con todo mi cariño  
a todas las personas  
que me ayudaron a  
lograr este objetivo,  
principalmente a mis  
queridos padres, her-  
manos y a mis involvi-  
dables Lila y Mili.

Gema

Con afecto y cariño  
a todos ustedes que  
fueron mi apoyo y a-  
yuda, en especial a  
toda mi querida fami-  
lia.

Claudia

# I N D I C E

CAPITULO I	Página
Objetivo .....	1
Introducción.....	2
CAPITULO II (Generalidades)	
Características de los chiles .....	5
Cantidad de chile que se consume en la República Mexicana.....	10
Composición bromatológica del chile.....	12
Composición química del chile.....	12
Características de los microorganismos....	17
CAPITULO III (Métodos y Materiales)	
Chiles empleados.....	28
Microorganismos empleados.....	28
Determinación de humedad.....	29
Determinación de pH.....	30
Determinación de acidez.....	32
Determinación de vitamina C.....	34
Determinación del contenido de capsaicina.	37
Determinación del contenido de bacterias y hongos.....	41
Prueba de inoculación en los chiles, con los diferentes microorganismos.....	44
Prueba de inoculación en los chiles neutralizados, con los diferentes microorganismos.....	47
Prueba de halos de inhibición en los distintos chiles con los diferentes microorganismos.....	50

	Página
Prueba de halos de inhibición utilizando alcohol para hacer las diferentes concentraciones de chiles.....	54
Prueba de difusión del chile en <u>gelosa</u> inclinada sembrando después los diferentes <u>microorganismos</u> .....	55
Prueba de inoculación en chiles en forma de salsas, con los diferentes <u>microorganismos</u> .....	57
Prueba de chile con alimentos.....	61
Prueba de esterilización con cloruro de mercurio.....	63
 CAPITULO IV	
Resultados.....	64
 CAPITULO V	
Discusión.....	101
 CAPITULO VI	
Conclusiones.....	104
Bibliografía.....	106

C A P I T U L O   I

## OBJETIVO

El principal objetivo de este trabajo es ver si el chile puede actuar como un agente bactericida o bacteriostático en microorganismos que atacan comunmente a los alimentos.

El segundo objetivo es buscar la concentración a la que éste puede funcionar como agente bactericida o bacteriostático.

El tercer objetivo es ver si el chile puede utilizarse como un agente conservador en algunos alimentos.

El cuarto y último objetivo sería el de contribuir al empleo de productos naturales en la industria alimentaria, ya que el chile es uno de los alimentos que se producen en gran escala, debido a que se consume mucho por diferentes sectores de la población mexicana.

## INTRODUCCION

Desde hace muchos años el chile se ha considerado como un alimento importante, debido a que se consume en diversas formas en la República Mexicana y en algunas partes de América. Pero las investigaciones acerca de propiedades y características de éste son muy pocas, ya que en México y en varias partes del mundo, sólo se han hecho estudios sobre la composición bromatológica: contenido de capsaicina (pungencia), del color -- (capsantina) y tocoferoles como componentes químicos.

Por investigaciones hechas por Chipault; J.R. Mizuno; G.R. Hawkinz; J.M. Anluntberg; W.O. en 1952, se vió que el chile presenta un efecto antioxidante, retardando el desarrollo de peróxidos y ácidos grasos en carnes (pollo, res y puerco) cocidas y refrigeradas. Por lo cual se pensó que como producto natural podría aplicársele otra propiedad: funcionar como agente bactericida o bacteriostático. Para probar ésto se utilizaron -- chiles jalapeños, serranos, poblanos, chilacas, mulatos anchos, pasillas, guajillos y chipotles, que son los -- que más se consumen aquí en México.

Las variedades de microorganismos que se escogieron, fueron los que atacan más comunmente a los ali-

mentos, y son:

Pseudomonas. Tienen la capacidad de desarrollarse a bajas temperaturas (refrigeración). Su tendencia aerobia les permite crecer rápidamente y originar productos de oxidación y mucílagos en la superficie de los alimentos.

Escherichia. Se considera como un signo de contaminación por desechos intestinales. Crecen a temperaturas comprendidas dentro de un amplio margen.

Serratia. Son productoras de pigmentos rojos que dan un color anormal a la superficie de los alimentos, y además son microorganismos con una fuerte actividad proteolítica.

Erwinia. Son patógenos de vegetales.

Salmonella. Son bacterias entéricas, patógenas, que al desarrollarse en los alimentos ocasionan a veces enfermedades alimenticias, produciendo la fiebre tifoidea.

Shigella. El género Shigella está estrechamente relacionado con E. coli y Salmonella. Es generalmente patógena del hombre ocasionando severas gastroenteritis denominadas habitualmente " disentería bacteriana ".

Streptococcus. Proviene del conducto intestinal del hombre y de los animales y a veces se usan como organismos indicadores de contaminación fecal en los alimentos.

Leuconostoc. Producen gran cantidad de mucílago en me-

dios que contienen sacarosa, por lo cual representa un riesgo en alimentos ricos en dicho disacárido.

Staphylococcus aureus. Existe en la piel, en el conducto intestinal y especialmente en la mucosa de la mesofaringe. Por lo que se considera como contaminación fecal. Causa intoxicaciones por las enterotoxinas que produce. Se encuentra contaminando alimentos como pollo, jamón, postres de crema, etc.

Xanthomonas. Es patógena de plantas.

C A P I T U L O      I I

## GENERALIDADES

### 2.1 CARACTERISTICAS DE LOS CHILES

El chile fue cultivado y usado como planta alimenticia en América desde antes de la conquista por los españoles y se sabe que constituyó un alimento importante en la dieta de los nativos, como ahora lo es para muchos mexicanos. Todas las especies cultivadas son originarias del Continente Americano.

Ahora bien, es un alimento que tomado en cantidades moderadas constituye un excelente condimento de sabor agradable, pero tomado con exageración produce una irritación en el aparato digestivo.

Varias especies de este alimento se conservan por largo tiempo debido a los métodos de desecación a que son sometidas, esto permite su almacenamiento y transportación a grandes distancias. Por otro lado, los análisis químicos demuestran que el fruto seco tiene un valor nutritivo, especialmente rico en vitamina A y C, por lo cual puede considerarse como una fuente de energía en los lugares aislados.

En México el chile es uno de los cultivos hortícolas más importantes, pues aquí se consume en mayor cantidad que en ningún otro país debido a que forma parte importante de la dieta diaria de la población, ya sea en forma de fruto verde o seco, enlatado, en polvo,

como condimento, en forma de salsas, como platillo en el caso de los chiles rellenos y en otras formas diversas. Asimismo, aquí, a todas las especies de Capsicum se les conoce con el nombre de chile, independientemente de la especie botánica; esta palabra deriva del término náhuatl "chilli", que designa al género Capsicum. En algunos países de América Latina el chile picante es conocido con el nombre de "ají" y al chile dulce se la denomina pimiento; en los países de habla inglesa recibe el nombre de Capsicum o "red pepper"; en alemán "pfeffer" "schotenofeffer" "beisbure"; etc.

El chile pertenece a la familia de las Solanaceas y al género Capsicum, éste fue instituido por Tournefort en 1700 y confirmado en 1742 por Linneo en su "Genera Plantarum". La gran variedad de tipos de chiles ha traído como consecuencia confusión en lo referente a la taxonomía de los mismos. Debido a lo anterior, Linneo describe sólo dos especies: C. annum y C. frutescens basándose principalmente en estudios del carácter de duración de su ciclo vegetativo. Los trabajos de revisión del género Capsicum efectuados por Irish en 1896 ayudaron a reconsiderar como únicas a las especies de C. annum y C. frutescens.

Sin embargo, Bailey (1923) considera que todos los chiles se comportan como perennes en su hábitat

original, por lo cual los redujo a una sola especie, - dando el nombre a ésta de C. frutescens; Erwin (1929) y posteriormente Meller y Fineman (1937) aceptaron la clasificación de Bailey; por otra parte, Shaw y Kham, en 1938, aceptan la clasificación de C. annum y C. frutescens.

Smith y Heirser, en 1948, aceptan una nueva especie C. pubescens; en 1951 afirman que C. annum y frutescens son dos especies diferentes, además de introducir otra especie C. pendulum. Toda esta clasificación fue basada en el tipo de cruzamiento que hay en ellas, y por las características de los órganos reproductores, 9, 11.

En este trabajo de investigación se toma en cuenta la clasificación dada por Linneo para poder clasificar a los chiles empleados, que como se mencionó anteriormente sólo considera dos especies C. annum y C. frutescens. Las variedades consideradas para cada especie son:

C. frutescens { var. frutescens  
var. baccatum

C. annum	<u>var. conoide</u>
	<u>var. fasciculatum</u>
	<u>var. acuminatum</u>
	<u>var. longum</u>
	<u>var. grossum</u>
	<u>var. abbreviatum</u>
	<u>var. cerasiforme</u>

Los chiles usados aquí fueron: serrano, jalapeño, poblano, mulato, ancho, pasilla, guajillo, chila - ca y chipotle. A continuación se da una breve descrip - ción de cada uno de ellos .

Serrano ( C. annum var. fasciculatum ). Frutos relativa - mente pequeños y alargados, de unos 3 a 4 cm de largo - por 0.8 a 1.0 cm de diámetro, su forma es cilíndrica-co - nica. Son de color verde intenso cuando están tiernos y rojo vivo o rojo pálido cuando maduran, tonalidades que se vuelven ocre en los frutos secos. Sus paredes son re - lativamente gruesas y las semillas llenan casi por com - plete la cavidad del fruto. Estos chiles tienen una sa - bor fuertemente picante. 8,9.

Jalapeño ( C. annum var. no conocida ). Frutos de tamaño - medio, de forma cónica y de paredes lisas. El color ver - de característico de los chiles jalapeños comerciales - se transforma en rojo vivo al madurar. Con frecuencia - estos chiles son perfectamente tersos cuando están tier

nos, muestran rajaduras que se cubren de corcho; La pulpa de éstos es particularmente gruesa y jugosa. El sabor que presenta es fuertemente picante. 3,8.

Poblano (C. annum var. grossum). Frutos grandes cuyas medidas varían generalmente al rededor de 9 a 12 cm de largo y de 5 a 6 cm de diámetro. Su forma es cónica o cónica truncada con un hundimiento bien definido en la unión del péndulo( rabo ), sus paredes son gruesas y más o menos onduladas dándole formas muy diferentes. Antes de madurar el color es verde oscuro, al madurar algunos frutos toman un color rojo y cuando están secos constituyen el chile conocido como " Ancho " .

Otros chiles de la misma variedad toman en su madurez un color café muy oscuro, cuando secos un café achocolatado, es en este estado cuando hay un cambio en su epidermis, la cual se vuelve china, y es así cuando se le conoce con el nombre de chile " Mulato". 3,8,9.

Chilaca (C. annum var no conocida). frutos largos y angostos que terminan en punta, de aproximadamente 18 cm de longitud por 3.5 cm de diámetro. su color es verde intenso cuando tierno, y en la madurez tiene un color amarillo y aveces escarlata. La forma en que se consumen éstos es cuando están tiernos. Su sabor es medianamente picante. 8

Pasilla (C. annum var. longum). Frutos largos y delga -

dos, que en general miden de 12 a 20 cm de largo y de 2 a 3 cm de diámetro. Su forma es cilíndrica cónica, adelgazándose normalmente hacia la punta y a veces hacia los extremos, encorvándose con frecuencia. Tienen un color verde muy oscuro cuando están tiernos, café rojizo cuando maduran y prácticamente negro cuando los frutos están secos, que es la forma en que se consumen estos.

Cierto tipo de chile de esta misma variedad tiene un color rojo al madurar y rojo sucio cuando los frutos se han secado. Sus paredes son delgadas, por lo cual, cuando se secan, éstos se ven un tanto transparentes. A estos chiles se les conoce con el nombre de "Guajillo".<sup>3,8.</sup>

Chipotle (C. annuum var. no conocida). Frutos de forma cónica, de alrededor de 5 cm de largo y 3 cm de diámetro. Estos chiles reciben el nombre de "Cuaresmeños" cuando se consumen frescos, pero al someterse al proceso de desecación reciben el nombre de Chipotle. Estos últimos se consumen en gran cantidad en forma encurtida.<sup>8</sup>

#### 2.1.1 CANTIDAD DE CHILE QUE SE CONSUME EN LA REPUBLICA MEXICANA.

Como se sabe el chile ha ocupado por muchos años un lugar muy importante en el consumo de verduras en México, y esto se puede comprobar de los datos mostrados en las tablas 1 y 2, las cuales nos dan una idea

TABLA NÚM. 1

PRODUCCION NACIONAL DE CHILE VERDE  
1976\*

EDOS	SUP COSECHA DA HA	PRODUCCION Kg	PRECIO RURAL AL MAYOREO Pesos/Kg
Chih.	3893	45716000	3.50
Gto.	3500	42000000	4.00
Ver.	4100	36900000	2.00
Jal.	3610	28784000	4.20
Sin.	2869	28690000	7.70
S.L.P.	1903	23787000	1.50
Son.	1147	21793000	2.20
Dgo.	1500	17204000	1.26
Oax.	3829	12289000	5.92
Hgo.	2950	10015000	3.00
Otros edos.	8683	47788000	3.54
TOTAL	40240	338930000	3.71

TABLA NÚM. 2

PRODUCCION NACIONAL DE CHILE SECO  
1976\*

EDOS	SUP COSECHA DA/HA	PRODUCCION	PRECIO RURAL AL MAYOREO Pesos/Kg
Zac.	6251	5875000	35.00
Ags.	2400	3810000	28.00
Gto.	1190	3570000	15.00
Jal.	1800	2700000	38.00
Ver.	3100	2580000	20.00
Oax.	3809	2402000	21.28
B.C.	1288	1932000	27.90
Dgo.	760	1824000	25.00
S.L.P.	1863	1770000	18.00
Gro.	945	749000	14.00
Otros edos.	2394	1920000	24.21
TOTAL	25800	29132000	25.88

\* La información de las tablas 1 y 2 fue tomada del Boletín Mensual de la Dirección General de Economía Agrícola. SARH MEX. 1976. Núm. 621-632.

de la extensión anual del cultivo, ya que ésta puede variar de un año a otro, como en el caso del chile verde - en que la producción en 1978 aumentó 127,042 ton aprox en tanto que la del chile seco disminuyó (3,883 ton -- aprox ).

### 2.1.2 COMPOSICION BROMATOLOGICA DEL CHILE

Los chiles ( verdes o secos ) son considerados como un alimento porque al ser ingeridos nos proporcionan una cierta cantidad de proteínas, agua, grasas, carbohidratos, calcio, fierro, vitamina A, riboflavina, -- niacina y vitamina C, que varía según la clase de chile y la época de cosecha del mismo.

Para que se tenga una idea de la cantidad que se ingiere de cada uno de estos componentes se da en la tabla 3 la composición bromatológica de los chiles utilizados en este trabajo de investigación.

### 2.1.3 COMPOSICION QUIMICA DEL CHILE

Por las investigaciones realizadas hasta la -- fecha, en diversos países sólo se puede hablar de tres componentes: La capsaicina, la capsantina y los tocoferoles.

#### Capsaicina.

Es un componente de la oleorresina del Capsicum, se ha determinado que es el principio pungente o -

TABLA Núm. 3  
COMPOSICION BROMATOLOGICA\*

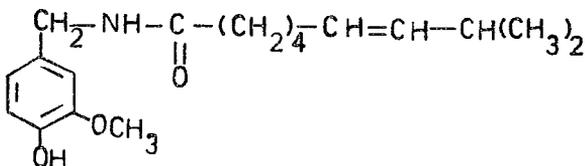
CHILE	CALORIAS	PROTEINA g/100g de chile	GRASA g/100g de chile	CARBOHIDRATOS g/100g de chile	CALCIO mg/100g de chile	FIERRO mg/100g de chile	VITAMINA A (RETINOL) mcg/100g de chile	VITAMINA B <sub>1</sub> (TIAMINA) mg/100g de chile	VITAMINA B <sub>2</sub> (RIBOFLAVINA) mg/100g de chile	VITAMINA P.P. (NIACINA) mg/100g de chile	VITAMINA C (AC.ASCORBICO) mg/100g de chile
Serrano	35	2.3	0.4	7.2	35	1.6	55.6	0.14	0.05	1.3	76.0
Jalapeño	23	1.2	0.1	5.3	25	2.0	27.8	0.06	0.04	0.6	72.0
Poblano	48	2.6	0.6	10.4	30	3.30	40.7	0.14	0.06	1.0	364.0
Chilaca	32	1.5	0.3	7.3	40	4.0	194.0	0.08	0.06	1.0	178.0
Ancho	290	11.5	9.8	50.3	94	14.8	1835.5	0.18	1.03	5.3	76.0
Mulato	337	9.6	15.2	52.3	154	15.4	4501.1	0.37	1.2	8.6	68.0
Pasilla	244	14.4	16.9	18.8	166	12.39	387.7	0.32	0.6	14.5	36.0
Chipotle	254	14.1	6.3	46.7	255	17.05	458.8	0.28	0.72	9.8	0.0
Guajillo	232	11.6	8.6	36.9	140	14.46	3281.1	0.19	0.94	4.8	100.0

\* Los datos de la Tabla 3 fueron tomados del Valor Nutritivo de los Alimentos Mexicanos (Tablas de uso Práctico). Inst. Nac. de Nutrición. Méx. 1974.

picante del Chile. Thresh (1876) aisló por primera vez la capsaicina, y fue él quien le dio ese nombre. En 1899 Mico, después de purificar la sustancia, obtuvo su punto de fusión (63.5- 64.0 °C), también vio que la capsaicina poseía propiedades fenólicas por lo cual sugiere la presencia de una vainillina en su fórmula. Nelson y Dawson (1923) muestran la fórmula, que es una vainillilamina del ácido isodecilenico (trans-8-metil-N-vainillil-6-nonenamida; N-(4 hidroxil-3-metoxibencil)-8-metil non-trans-6-enamida), la cual tiene un punto de ebullición de 210-220°C.

Fórmula empírica:  $C_{18}H_{27}O_3N$

Fórmula desarrollada:



La oleorresina es de un color rojo oscuro o rojo anaranjado, soluble en éter etílico, éter de petróleo y disolventes orgánicos.

La capsaicina se ha usado por mucho tiempo como contrairritante en el tratamiento del lumbago, neuralgia y reumatismo. También se usa en el caso de diarreas severas y de atonía estomacal e intestinal. En la industria alimentaria la oleorresina juega un papel im-

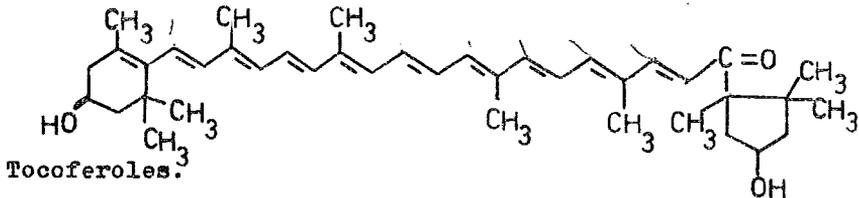
portante como materia prima en la química de sabores y para la sustitución de hierbas y especias en la industria. (13)(17)(21)(24)(25)

**Capsantina.**

Es el pigmento carotenoides del Capsicum ya maduro; cuando se extrae es un polvo rojo oscuro, que tiene un punto de ebullición de 175-176°C, es soluble en alcohol, éter de petróleo, cloroformo. (13)(21)

Fórmula empírica:  $C_{40}H_{58}O_3$

Fórmula desarrollada:

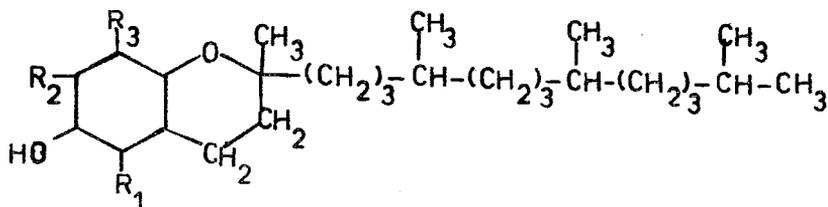


Los tocoferoles son más conocidos con el nombre de vitamina E. Por estudios hechos se ha demostrado que no existe una sola vitamina E. Hasta ahora se han descrito tres. Se distinguen como formas alfa, beta, gamma de los tocoferoles. Solo tiene interés para el hombre el primero.

Se encuentran ampliamente distribuidos en los aceites vegetales. También se encuentran en las grasas animales.

Son antioxidantes naturales, ya que son lentamente oxidados por el oxígeno. Tienen un punto de ebullición de 200-210°C. Son solubles en aceite, grasas, acetonas, alcohol, cloroformo, éter; insoluble en agua. Muy estable al calor, luz y álcalis. (7)(16)(22)

	Para	Para
	alfa, beta	gamma
Fórmula empírica:	$C_{28}H_{48}O_2$	$C_{29}H_{50}O_2$
Fórmula desarrollada:		



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
α	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>
β	-CH <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>3</sub>
γ	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>

## 2.2 CARACTERISTICAS DE LOS MICROORGANISMOS

Todos los alimentos poseen una flora microbia na natural antes de que el alimento sea obtenido o cosechado, y durante la manipulación o tratamiento del mismo puede haber una contaminación procedente del equipo- empleado, los materiales de empaque y el personal.

Lo dicho anteriormente se puede ver claramente en los vegetales y en la carne de los animales.

Los vegetales poseen en su superficie una flora microbiana típica, pudiendo además contaminarse a -- partir del suelo, materias cloacales, aire y animales, -- de forma tal que los microorganismos presentes en ellos se añaden a la flora natural de las plantas.

La carne de los animales tiene una flora su- perfcial natural que no es, en general, tan importante como la de los microorganismos contaminantes del conduc tointestinal, piel, pezuñas y pelo. En estos lugares se pueden encontrar no sólo microorganismos procedentes -- del suelo, estiércol, piensos t agua, sino también al- gunos tipos importantes de microorganismos causantes de alteraciones en los alimentos. Las plumas y patas de -- las aves también están muy contaminadas por esos mismos microorganismos. En ocasiones ciertas bacterias patóge- nas para el hombre pueden provenir de los animales.

Lá tabla Núm 4 nos muestra el tipo de microor

ganismos que hay en los alimentos por contaminación natural.

Muchos de estos microorganismos se eliminan--- por los tratamientos a los que se someten los alimentos, pero se puede adquirir otro tipo de microorganismos si no se tiene los cuidados adecuados en los procesos de elaboración a los que son sometidos, como lo podemos ver en los siguientes alimentos.

Carnes frescas. En la mayor parte de las carnes se hallan presentes las bacterias enunciadas en la tabla 4, pero pueden encontrarse microorganismos como Serratia marcescens u otras bacterias pigmentadas; Escherichia, Salmonella, Shigella.

Jamón. Solo conserva Streptococcus, Lactobacillus, Micrococcus y suele contaminarse con Serratia, Pseudomonas --- Clostridium, Escherichia coli, Staphylococcus aureus.

Carnes empacadas refrigeradas. Es posible que contengan Pseudomonas, Achromobacter, etc.

Pescado conservado a elevadas temperaturas. Suele contaminarse con Pseudomonas, Flavobacterium.

Pescado conservado a temperatura media. Es muy comun que adquiera microorganismos como Escherichia, Proteus -- Serratia, Clostridium.

Pescado salado. Tiende a mostrar la presencia de Serratia, Pseudomonas , Achromobacter.

TABLA Núm. 4  
CONTAMINACION BACTERIANA DE ORIGEN NATURAL DE LOS ALIMENTOS\*

	<u>Pseudomonas</u>	<u>Achromobacter</u>	<u>Flavobacterium</u>	<u>Alcaligenes</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Enterobacter</u>	<u>Proteus</u>	<u>Micrococcus</u>	<u>Sarcina</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Lactobacillus</u>	<u>Corynebacterium</u>	<u>Arthrobacterium</u>	<u>Chromobacterium</u>	<u>Bacillus</u>	<u>Clostridium</u>	<u>Streptomyces</u>
Plantas	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Animales <sub>1</sub>	+	+	+			+		+		+	+	+	+	+	+	+	+	+
Aves	+	+	+	+	+	+		+		+						+		
Estiercol <sub>2</sub>				+	+	+		+	+	+		+				+	+	
Pescado:																		
Mucosidad <sub>3</sub>	+	+	+	+			+	+	+				+			+		
Instestino <sup>+</sup>	+	+	+		+			+								+		
Agua	+	+	+			+	+	+	+	+			+		+	+		
Hielo	+	+	+					+							+			
Suelo <sub>4</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

1 También Staphylococcus

2 También Propionibacterium

3 También Vibrio, Serratia

4 También Acetobacter

\* Frazier "Microbiología de los Alimentos". Editorial Acribia; Zaragoza. 1972.

Frutas y Hortalizas. Sus frutos suelen contaminarse con Erwinia, Xantomonas, etc.

Para la realización de este estudio, se emplearon microorganismos de las familias: Enterobacteriaceae (Serratia, Salmonella, Shigella, E. coli y Erwinia); Pseudomonadaceae (Pseudomonas y Xantomonas); Streptococcaceae (Streptococcus y Leuconostoc); Micrococcaceae (Staphylococcus). A continuación se da una breve descripción de cada uno de ellos.

Familia : Micrococcaceae  
Género : Staphylococcus  
Especie : Staphylococcus aureus (4)(6)(20)

Morfología y tinción. Son esferas típicas (cocos) de 0.8 - 1.0 $\mu$ m, que se agrupan en racimos irregulares que dan al microorganismo su nombre genérico. No son esporulados y por lo general no forman cápsulas excepto ocasionalmente en cultivos jóvenes en caldo (de 4-6 h).

Estos cocos se tiñen con facilidad tanto por los colorantes básicos como ácidos y son gram positivos. Características de cultivo. Son microorganismos anaerobios facultativos que se desarrollan mejor en condiciones aerobias. Crecen en medios de extractos de carne o infusión de carne, a una temperatura de 6.5<sup>o</sup>- 46<sup>o</sup>C, siendo su temperatura óptima de crecimiento de 35<sup>o</sup> - 40<sup>o</sup>C, con un pH de 7 a 7.5 .

Las colonias muy juvenes de S. aureus son siempre incoloras; pero durante su crecimiento elaboran un pigmento amarillo dorado o anaranjado, que es la característica primordial en sus medios de cultivo, además de ser redondas convexas, opacas, y de consistencia blanda.

Familia : Enterobacteriaceae  
Tribu : Escherichieae  
Género : Escherichia  
Especie : Escherichia coli (5)(12)(20)

Las bacterias de los géneros Escherichia, Enterobacter y Citrobacter se incluyen en el grupo de coliformes o coli-aerógenos y en conjunto se les denomina coliformes o bacterias coliformes.

Morfología y tinción. Son bacilos gruesos y cortos (1.1 - 1.5 por 2.0 - 6.0 $\mu$ m). No forman esporas, pero una pequeña proporción de las cepas presenta cápsulas.

Son gram negativas y se tiñen uniformemente por los colorantes de anilina.

Características de cultivo. Estos microorganismos son anaerobios facultativos, se desarrollan fácilmente en todos los medios de cultivo usuales, a una temperatura entre 20° y 40°C, y con un pH de 6 a 8.

En placas de gelosa es una colonia poco elevada, lisa e incolora, con bordes enteros. En el medio de

Endo y en el de eosina-azul de metileno las colonias de E. coli tienen un brillo metálico peculiar que se observa mejor a la luz reflejada.

Familia : Enterobacteriaceae  
Tribu : Escherichieae  
Género : Salmonella  
Especie : Salmonella typhi (5)(12)(14)(20)

Aunque Salmonella y Escherichia son muy parecidas, a diferencia de Escherichia, los miembros del género Salmonella son habitualmente patógenos, bien del hombre o bien de los animales.

Morfología y tinción. Tienen forma de bacilo corto y grueso. No son esporulados y no tienen cápsula.

Se tiñen fácilmente con los colorantes usuales de anilina y son gram negativos.

Características de cultivo. Son aerobios pero también anaerobios facultativos. Se desarrollan en medios de gelosa nutritiva, gelosa sulfito de bismuto, gelosa verde brillante rojo de fenol, con un pH de 6 a 8, a una temperatura de 15° a 40°C con un óptimo de 37.5°C.

Después de 24 h de incubación las colonias son más pequeñas y más delicadas que las de E. coli en medios de gelosa nutritiva. En medio de sulfito de bismuto su aspecto es negro azabache, en contraste con las colonias no coloreadas de E. coli.

Familia : Enterobacteriaceae  
Tribu : Escherichieae  
Género : Shigella  
Especie : Shigella dysenteriae (4)(5)(14)(20)

Morfología y tinción. Son bacilos cortos y guesos. No tienen cápsula, no son esporulados.

Son gram negativos, se tifen con los colorantes usuales de anilina.

Características de cultivo. Son microorganismos aerobios, también suelen ser facultativos. Se desarrollan fácilmente en los medios usuales de laboratorio a una temperatura entre 10° y 40°C, con un óptimo de 37°C, y con un pH de 6.4 a 7.8 .

Estos microorganismos son más delicados que los del grupo Salmonella y son inhibidos parcialmente por el medio gelosa sulfito de bismuto y el de gelosa verde brillante. El citrato desoxicolato sódico, gelosa SS, ocupan posición intermedia en su efecto de inhibición.

Las colonias son circulares, convexas, incolores moderadamente translúcidas, con una superficie lisa y bordes enteros. Aparecen blauecinas y más opacas -- cuando se miran sobre un fondo oscuro, pero nunca tanto como las colonias de E. coli.

Familia : Enterobacteriaceae

Tribu : Erwinieae  
Género : Erwinia  
Especie : Erwinia spp (5)(12)(26)

Morfología y tinción. Son microorganismos de forma bacilar con dimensiones 0.5 - 1.0 por 1.0 - 3.0  $\mu\text{m}$ , gram negativos.

Características de cultivo. Son aerobios o aerobios facultativos. Crecen en medios de gelosa triptona extracto de levadura a una temperatura óptima de 27° a 30°C, y con un pH de 6 a 8.

Las colonias en medios de cultivo de gelosa - triptona extracto de levadura son de forma circular, enteras, lisas, de apariencia butírica, de color amarillo.

Familia : Enterobacteriaceae  
Tribu : Klebsielleae  
Género : Serratia  
Especie : Serratia marcescens (4)(5)(12)(14)

Morfología y tinción. Tienen forma bacilar, son pequeños, gram negativos.

Características de cultivo. Crecen aerobiamente. Pueden desarrollarse en medio de gelosa nutritiva a una temperatura óptima de 35°C, con un pH de 6.4 a 7.5 .

Producen un pigmento rojo, que es la característica principal en sus medios de cultivos.

Familia : Pseudomonadaceae

Género : Pseudomonas

Especie : Pseudomonas aeruginosa (5)(19)(26)

Morfología y tinción. Es un bacilo 0.5 - 0.8 por 1.5 - 3.0  $\mu$ , generalmente recto pero que puede ser curvo, -- gram negativo. No es esporulado ni capsulado.

Características del cultivo. Es un microorganismo aerobio, el crecimiento ocurre desde 4° a 43°C siendo su -- temperatura óptima de 28°C, a un pH neutro o alcalino - (7.0 - 8.5), en medios de gelosa nutritiva, de gelosa - triptona extracto de levadura.

En gelosa nutritiva después de 24 h de incubación se producen colonias extendidas, grandes, blandas, lisas, que pueden llegar a ser confluentes y cubrir toda la superficie del medio. Las colonias no son pigmentadas; pero producen un pigmento fluorescente soluble -- que se difunde en el medio para producir un color verde amarillo o rojo fluorescente, el cual depende de la variedad de que se trate.

Familia : Pseudomonadaceae

Género : Xanthomonas

Especie : Xanthomonas spp (5)(12)(26)

Morfología y tinción. Es un microorganismo que presenta forma de bacilos cortos (0.2 - 0.8 por 0.6 - 2.0  $\mu$ m), -- gram negativos, no poseen cápsulas.

Características del cultivo. Son estrictamente aerobios. Crecen en medio de gelosa triptona extracto de levadura a una temperatura óptima de 25° a 28°C. Sus colonias -- presentan forma circular, convexas o elevadas, lisas, - de apariencia mucosa o butírica, de color amarillo.

Familia : Streptococcaceae

Género : Streptococcus

Especie : Streptococcus faecalis (4)(5)(20)

Morfología y tinción. Es un coco de menos de 2 $\mu$ m de diá- metro que se disponen característicamente en cadenas -- largas o cortas, dependiendo de las condiciones de cre- cimiento. No son esporulados, gram positivos en culti-- vos jóvenes; pero muy variable y hasta gram negativos - en cultivos de varios días.

Características de cultivo. Son microorganismos aero--- bios facultativos, que crecen a una temperatura tanto - de 10°C como de 47°C pero no a 50°C, siendo su tempera- tura óptima de 45°C. Se desarrollan mejor a un pH de --- 9.6 .

En gelosa sangre las colonias son opalescen--- tes, pequeñas y enteras, con bordes lisos o muy ligera--- mente rugosos y sobre la superficie del medio tienen un aspecto de pequeñas gotitas de líquido; raramente pig--- mentadas, cuando sucede ésto se puede decir que se de--- bió a la precipitación de los iones metálicos.

Familia : Streptococcaceae  
Género : Leuconostoc  
Especie : Leuconostoc mesenteroides (5)(12)

Morfología y tinción. Son microorganismos esféricos u - ovalados, gram positivos. No forman esporas.

Características de cultivo. Son aerobios facultativos. Crecen en medios de gelosa o caldo sacarosado, caldo o gelosa malta-gelosa malta sal, caldo nutritivo. Su temperatura de crecimiento es de 10° a 37°C, creciendo mejor a una temperatura de 20° a 30°C. A un pH de 6.5 .

Las colonias en medios de gelosa nutritiva -- son de forma apelada, superficie lisa, textura viscosa.

CAPITULO III

## MATERIALES Y METODOS

### CHILES.

Las variedades de chiles utilizadas en este trabajo de investigación fueron compradas en el mercado de la Merced (lugar que recibe toda clase de alimentos de diversos lugares de la República Mexicana). La forma en que se conservaron los chiles: mulato, pasilla, ancho, chipotle y guajillo fue en bolsa de papel; el serrano, jalapeño, poblano y chilaca eran comprados el día que se utilizaban.

### MICROORGANISMOS.

Las cepas de Salmonella typhi, Leuconostoc mesenteroides, Streptococcus faecalis, Serratia marcescens, Shigella dysenteriae, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, fueron adquiridas en el cepario de la Facultad de Química; Xanthomonas spp., Erwinia spp., se obtuvieron en el laboratorio de Microbiología Industrial.

## DETERMINACION DE HUMEDAD

Secar el alimento en una estufa a una temperatura ligeramente superior a la de ebullición del agua,  $100^{\circ}$  -  $110^{\circ}\text{C}$  lo que hace es que se evapora el agua y así eliminarla del producto; pocas veces se pierde el agua de inhibición. El chile se somete a este proceso para que se elimine el agua que contiene, y así poder obtener la humedad real del producto.

### Material

Estufa a  $100^{\circ}$  -  $110^{\circ}\text{C}$

Pesafiltro a peso constante.

Desecador.

### Método

Pesar de 2 a 3 g de muestra en el pesafiltro puesto a peso constante, secar en la estufa a  $100^{\circ}$ - $110^{\circ}$  Centígrados durante 3 h, luego enfriar en el desecador y pesar de nuevo. Volver a introducir en la estufa hasta que la segunda cifra decimal no varíe en las dos últimas pesadas.

## DETERMINACION DE pH

El método potenciométrico consiste en la medición de la diferencia de potencial entre un electrodo - indicador (su potencial no se afecta al cambiar la composición de la solución que se investiga) y un electrodo de referencia (su potencial depende de la concentración de uno de los iones en la solución) a diferentes intervalos durante el transcurso de una valoración.

### Material y Reactivos

Solución reguladora pH 7.0

Agua destilada.

Aparato Digi-Sense pH Meter.

Model 5985-40

Cole Parmer

Mortero.

### Método

En el mortero se muelen 10 g de chile (fresco o seco) agregando 100 ml de agua para el caso del chile fresco y 300 ml para los chiles secos.

Ajustar el potenciómetro con la solución reguladora pH 7.0 .

Introducir el electrodo en la solución de chi-

le, y después de tres minutos se toma la lectura que -  
marca el potenciómetro.

## DETERMINACION DE ACIDEZ

La presencia de ácido en una muestra puede de terminarse por una reacción de neutralización utilizando un indicador para observar la correspondencia.

### Reactivos y Materiales

Solución de hidróxido de sodio (NaOH) 0.01N.

Solución alcohólica de fenoftaleína al 1%

Agua destilada.

Bureta de 25 ml.

Pipeta de 10 ml.

Matraces Erlenmeyer de 250 ml.

Mortero.

Soporte.

Pinzas de bureta.

### Método

Se muele en el mortero 10 g de chile fresco - (serrano, jalapeño, poblano, chilaca) o chile seco (pasilla, mulato, ancho, chipotle, guajillo), agregando -- 100 ml de agua para los chiles frescos y 300 ml para - los chiles secos.

Tomar con la pipeta 10 ml de la solución de - chile y ponerlos en un matraz Erlenmeyer de 250 ml, agre

gar 5 gotas de la solución de fenoftaleína.

En la bureta se pone la solución de sosa (NaOH) 0.01N, y se procede a valorar la solución del chile que se encuentra en el matraz Erlenmeyer, los ml gastados se anotan.

Los resultados se expresan en % de ácido ascorbico ya que es el ácido que se encuentra en los chiles.

## DETERMINACION DE VITAMINA C

La vitamina C tiene la propiedad de decolorar al indofenol (dicloro fenol indofenol), colorante azul, y la cantidad decolorada es proporcional a la cantidad de vitamina C presente en la muestra.

### Reactivos y Materiales

Solución de ácido acético al 5 %

Solución de ácido metafosfórico al 3 %

Solución estandar de vitamina C.

Solución de indofenol.

Mortero.

Arena limpia.

Pipetas de 10 ml y 1 ml.

Bureta de 100 ml.

Matraz aforado de 500 ml.

Bureta de 50 ml.

Matraz Erlenmeyer de 250 ml.

Agua destilada.

### Método

Solución estandar de vitamina C: Preparar una solución de ácido metafosfórico al 3% que contenga 1 mg de vitamina C por ml.

Solución de indofenol: Pesar 25 mg de indofe-

nol y 21 mg de bicarbonato de sodio, disolver y aforar a 500 ml con agua destilada. Para su valoración, tomar 1 ml de la solución estandar de vitamina C y ponerla en un matraz Erlenmeyer de 250 ml, agregar 9 ml de la solución de ácido metafosfórico al 3%; en la bureta poner la solución de indofenol y valorar hasta color rosa persistente (37.5 ml corresponden aproximadamente a 1 mg de vitamina C).

Quantificación de vitamina C: Pesar 5 g de Chile y molerlos en un mortero con un poco de arena -- limpia (aproximadamente 1 g). Para prevenir la oxidación de la vitamina C durante la extracción en los chiles, se añaden 50 ml de la solución de ácido acético o de ácido metafosfórico recién preparado al 3% (ésto -- destruye la enzima oxidasa del ácido ascórbico). La vitamina C ahora se encuentra en la solución; se pone la mezcla en una probeta de 100 ml y se agrega agua hasta el aforo, agitarla mezcla y dejar reposar.

Tomar 10 ml de la solución y colocarlos en un matraz Erlenmeyer de 250 ml, en la bureta se pone el indofenol (colorante azul). Se procede a valorar, el color azul vira al rosa tan pronto se pone en contacto -- con el ácido e inmediatamente se decolora por la vitamina C presente; continuar la adición de indofenol hasta que persista por lo menos 10 seg un color rosa; esto -- significa que la cantidad de indofenol agregado ha reac

cionado con todo el ácido ascórbico presente en los 10 ml de la solución de chile.

NOTA: Cuando se utilizó chile seco (pasilla, ancho, mulato, guajillo o chipotle) se agregaron 100 ml de agua destilada a los 10 ml de la solución de chile, esto se hizo con el propósito de poder observar mejor el vire.

DETERMINACION DEL CONTENIDO  
DE  
CAPSAICINA

Ya que la capsaicina es un componente de la o leorresina de Capsicum, para su extracción se utiliza - un aparato de Soxhlet para extraer la grasa contenida - en los chiles y así determinar la cantidad contenida en ellos. Esta determinación fue basada en el artículo por Trejo G.A. (24)

Reactivos y Materiales

Eter de petróleo.

Isopropanol.

Metanol.

Cloroformo.

Acido acético.

Carbón activado.

Chile fresco o seco cortado en pedacitos.

Aparato de Soxhlet.

Parrilla eléctrica con graduación.

Cartuchos de papel filtro.

Recipiente para calentar agua.

Matraces Erlemeyer de 250 ml y 500 ml.

Matraz aforado de 25 ml.

Embudos de vidrio de cola larga.

Embudo de separación.

Tapones de hule para tapar los matraces Erlenmeyer.

Papel filtro Whatman Núm. 1 .

Tiras de papel filtro de 2.5 cm de ancho por 17.5  
cm de largo.

Cámara de vidrio para cromatografía.

Lámpara de U.V.

Espectrofotómetro para U.V.

### Método

Pesar 20 g de chile cortado en pedacitos y colocarlos en el cartucho de papel filtro. Montar el aparato de Soxhlet agregando el cartucho de papel filtro - en el extractor; ya que se tiene montado, se agregan 2 cargas de isopropanol, y se pone a reflujar por un tiempo de 18 a 19 h, a una temperatura de 200°C.

Después de éste tiempo se deja enfriar el matraz Soxhlet; ya frío se pasa a un matraz Erlenmeyer de 500 ml la solución y se ajusta a un volumen de 200 ml - con isopropanol, se agregan 5 g de carbón activado (para el caso de chiles frescos) y se calienta a ebullición por 3 min y se filtra. Cuando se trate de chiles

secos se repite este paso dos veces para poder extraer totalmente el color de la solución.

El filtrado se evapora a sequedad, al residuo que se obtiene se le agregan 20 ml de éter de petróleo y se tapa el matraz con un tapón de hule y se deja reposar por 10 min, terminado ese tiempo se pasa la solución a un embudo de separación y se lava el matraz que contiene el éter con agua destilada, la cual también se pone en el embudo de separación. Al residuo pegajoso - que queda en el matraz se le agregan 20 ml de éter de petróleo y se procede a hacer los mismos pasos anteriores.

El embudo de separación se agita con mucho cuidado y se deja reposar, el agua se descarta y la parte etérea se pasa a un matraz Erlenmeyer de 250 ml, esta última se evapora a sequedad. El residuo se disuelve con 20 ml de isopropanol pasándose después a un matraz aforado de 25 ml, se afora con isopropanol.

Se toma la solución contenida en el matraz aforado y se lee su absorbancia a 281 nm en el espectofotómetro contra un blanco de isopropanol.

La cantidad de capsaicina contenida en los chiles se determina a partir de una curva estándar de capsaicina que contiene 10, 20, 30, 40 y 50 g/ml. Esta curva estándar de capsaicina no se hizo porque no se pu

do conseguir la capsaicina pura, por lo cual se utiliza la curva estandar que presenta el artículo de donde fue sacada esta técnica.

Para comprobar si lo que se tiene en la solución es capsaicina se hace una cromatografía en papel.

En las tiras de papel filtro de 2.5 cm de ancho por 17.5 cm de largo se colocan 50  $\mu$ l de cada extracto de chile, a una distancia de 1.5 cm de la orilla del papel. Estas tiras se puenen en la cámara de cromatografía, la cual contiene un sistema de solvente cloro--forme--metanol--ácido acético (95 : 1 : 5 v/v), hasta que la línea alcanza 2.5 cm de frente al papel (aproximadamente 15 min.). Las tiras se sacan y se secan al aire.

El cromatograma se examina a una longitud de onda de 254 nm con una lámpara de U.V., la capsaicina - fluorescente fue localizada cerca del frente del solvente a esa longitud de onda. La capsaicina fue entonces - eluida de los cromatogramas con 2 ml de isopropanol.

DETERMINACION DEL CONTENIDO  
DE  
BACTERIAS Y HONGOS

Cuando se siembra un huerto se esparce la semilla sobre el suelo, para que las plantas no crezcan - demasiado cerca. Deforma semejante, la siembra bacteriana en un medio de cultivo debe hacerse en forma rala, - para que las colonias aparezcan por separado y así puedan contarse. Por esto se hacen tantas diluciones de la muestra original como sean necesarios.

Reactivos y Materiales

Medio de gelosa nutritiva estéril.

Medio de rosa de Bengala estéril.

Tubos de ensayo con 9 ml de agua peptonada al 0.1% (esteril).

Matraz Erlenmeyer con 90 ml de agua peptonada al 0.1% (estéril).

Licudadora con vaso estéril.

Cajas de Petri estériles.

Pipetas de 1 ml estériles.

Balanza granataria.

Mechero.

Método

Recuento de bacterias: Pesar asépticamente 10 g de chi-

le, colocarlos en el vaso de licuadora estéril y añadir 90 ml de agua peptonada estéril. Homogenizar por un minuto y medio.

Tomar 1 ml del homogenizado y hacer diluciones progresivas en los tubos con agua peptonada estéril, para tener diluciones de 1 : 10 hasta 1: 1,000,000.

Verter de cada una de las diluciones 1 ml en el fondo de una caja de Petri estéril. Luego agregar en cada caja gelosa nutritiva fundida y enfriada a unos -- 45°C, homogenizar. Dejar solidificar e incubar a 35°C/ 24 h. Este procedimiento se hace por triplicado para cada dilución.

Se descartan las placas que contienen menos de 30 o más de 300 colonias. Cada colonia se supone que representa un solo microorganismo de la muestra original. En cada caso se multiplica este recuento por la dilución de la muestra en esa placa, y así se obtiene el número de microorganismos por cada gramo de muestra original.

Recuento de hongos: Se siguen los mismos pasos que para el recuento de bacterias, con la diferencia de que en lugar de agregar gelosa nutritiva a las placas que contienen 1 ml de la dilución de la muestra, se debe agregar medio de rosa de Bengala. Este medio inhibe el crecimiento de bacterias dejando crecer a los hongos que -

puedieran existir en el alimento.

PRUEBA DE INOCULACION EN LOS CHILES,  
CON LOS DIFERENTES MICROORGANISMOS.

Esta prueba se hizo con el fin de ver si el chile, con su pH original y a diferentes concentraciones, era capaz de inhibir el crecimiento de los microorganismos. Para el efecto los chiles se molieron y se inocularon con cada uno de los microorganismos utilizados en esta investigación.

Reactivos y Materiales.

Caldo nutritivo.

Gelosa nutritiva estéril.

Tubos esterilizados con agua peptonada al 0.1 %.

Cepas puras de los microorganismos: Salmonella typhi, Shigella dysenteriae, Streptococcus faecalis, Staphylococcus aureus, Leuconostoc mesenteroides, Serratia marcescens, Escherichia coli, Xanthomonas spp, Erwinia spp Y Pseudomonas aeruginosa.

Chiles: serrano, jalapeño, poblano, chilaca, ancho, pasilla, guajillo, mulato, chipotle.

Pipetas estériles de 1 ml.

Asa con porta asa.

Mortero.

Mechero.

Báscula granataria.

Cajas de Petri estériles y no estériles.

Cucharas soperas.

### Métodos

Dependiendo de la concentración que se quiera y del chile que se trate (porque éstos tienen diferentes cantidades de agua) se pesa en una báscula granataria la cantidad adecuada de chile.

Aquí se utilizaron concentraciones de: 40, 60 y 80% p/v para el caso de los chiles mulato, ancho, pasilla, guajillo y chipotle; de 12, 11 y 10% p/v para chiles serrano y chilaca; de 10, 9 y 8% p/v para el chile poblano; de 5, 4.5 y 4.0% p/v para el chile jalapeño. La diferencia tan grande entre los chiles secos y frescos se debió a que estos últimos se tenían que secar y el secado podría cambiar sus propiedades, y también porque lo que aquí se quería era probar si el chile en su forma original tenía propiedades bactericidas.

El chile se muele en el mortero y se le agrega la cantidad que le corresponde de agua en caldo nutritivo; una vez que está bien molido se colocan dos cucharadas soperas en cada caja de Petri no estéril y se esterilizan a 120°C o 1 atm de presión/15 min. Se enfrían.

Un tubo con agua peptonada estéril se inocula con una asada de un tipo de microorganismo, así se pro-

cede para los 10 tipos de microorganismos.

Ya frías las cajas de Petri que contienen el chile se inoculan con 1 ml del agua peptonada inoculada dejando una caja sin inocular para que sirva de blanco. Se incuban a 28°C/24 h excepto en el caso de Pseudomonas, la cual se incubaba a 35°C/24 h.

Las cajas que presentan crecimiento no se re-siembran, sólo se anotan sus resultados. A las cajas -- que no presentan crecimiento se les agrega 5 ml de caldo nutritivo y se dejan reposar aproximadamente 5 min, después se toma 1 ml de este caldo nutritivo y se coloca en una caja de Petri estéril, a la cual se le agrega gelosa nutritiva enfriada a 45°C, esto se hace para todas las demás cajas. Se incuban a 28°C/24 h excepto - Pseudomonas, la cual se incubaba a 35°C/24 h.

Después de ese tiempo se ven los resultados y se anotan.

PRUEBA DE INOCULACION EN LOS CHILES  
NEUTRALIZADOS, CON LOS DIFERENTES  
MICROORGANISMOS

El objetivo de esta prueba era ver si a un pH neutro el chile podría inhibir el crecimiento de los microorganismos. Por ésto los chiles eran molidos a diferentes concentraciones y neutralizados. La neutralización se hizo con sosa concentrada, ésto hace que no varíe la concentración original.

Reactivos y Materiales.

Caldo nutritivo.

Gelosa nutritiva estéril.

Tubos con agua peptonada al 0.1% estéril.

Solución reguladora pH 7.0 .

Cepas puras de: Salmonella typhi, Shigella dysenteriae, Leuconostoc mesenteroides, Serratia marcescens, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis, Xanthomonas spp, Erwinia spp, Pseudomonas aeruginosa.

Chiles: serrano, jalapeño, chilaca, poblano, ancho, pasilla guajillo, mulato y chipotle.

Aparato Digi-Sense pH Meter.

Model 5985-40

Cole Parmer.

Cajas de Petri estériles y no estériles.

Pipetas de 1 ml estériles.

Asa con porta asa.

Mechero.

Mortero.

Cucharas, soperas.

### Método

Se pesa cierta cantidad de chile, la que depende de la concentración que se quiera y del chile de que se trate (porque estos tienen diferente cantidad de agua). Aquí se utilizaron las mismas concentraciones -- que en el caso de la "Prueba de inoculación de chiles a su pH original, con los diferentes microorganismos".

El chile se muele en un mortero y se le agrega en caldo nutritivo la cantidad que le correspondería de agua; ya que está bien molido se coloca el electrodo del potenciómetro (el cual debe estar previamente ajustado a un pH de 7 con la solución reguladora), después de 3 min se toma la lectura y se procede a agregar gotas de sosa concentrada hasta que se obtenga una lectura de 7.0 . Ya que se tiene el chile neutralizado se toman 2 cucharadas soperas y se ponen en cada caja de Petri no estéril y se esterilizan a 120°C o 1.1 atm/15min Se enfrían.

Cuando las cajas están frías se procede a hacer los mismos pasos que se hacen en la prueba de inoculación de los chiles a su pH original, con los diferentes microorganismos.

PRUEBA DE HALOS DE INHIBICION  
EN LOS DISTINTOS CHILES CON LOS DIFERENTES  
MICROORGANISMOS

Esta prueba se basó en el método de medición de actividad antibiótica por medio de discos de papel - filtro.

Como se sabe, un antibiótico es una sustancia química, derivada de un organismo vivo, que es capaz de inhibir, o incluso destruir microorganismos. Lo que aquí se pretende, es ver si el chile inhibe o no inhibe el crecimiento de los microorganismos. Por ésto se hicieron - discos con diferentes concentraciones de chile, los cuales se colocaban en cajas de Petri inoculadas con microorganismos y se incubaban, después de incubarlas se procedía a medir los halos de inhibición, si existían.

Reactivos y Materiales

Discos de papel Whatman Núm 1 de aproximadamente 10 mm de diámetro.

Discos de chile de aproximadamente 10 mm de diámetro.  
Medio de gelosa nutritiva estéril.

Tubos con agua peptonada estéril al 0.1%.

Chiles: serrano, jalapeño, poblano, chilaca, ancho, pasilla, guajillo, chipotle y mulato.

Cepas puras de: Salmonella typhi, Shigella dysente-

riae, Leuconostoc mesenteroides, Serratia marcescens, Streptococcus faecalis, Staphylococcus aureus, Xanthomonas spp, Erwinia spp, Escherichia coli, --  
Pseudomonas aeruginosa.

Pipetas estériles de 1 ml.

Asa con porta asa.

Mechero.

Mortero.

Cuchara sopera, Marcador, Regla.

### Método

Preparación de los discos con diferentes concentraciones: Se muelen los chiles en un mortero agregando la cantidad de agua adecuada para tener concentraciones de 40, 60 y 80 % p/v para los chiles ancho, chipotle, mulato, pasilla y guajillo; de 12, 11 y 10% p/v para los chiles serrano y chilaca; de 10, 9 y 8 % p/v para el chile poblano; de 5, 4.5 y 4 % p/v para el chile jalapeño. Se toma aproximadamente dos cucharadas soperas de cada concentración y se pone en cada caja de Petri no estéril, a cada caja se le agrega discos de papel Whatman Núm 1 - de aproximadamente 10 mm de diámetro para que se embeban de esa concentración. Se esterilizan las cajas a 120°C ó 1.1 atm/15 min.

Preparación de discos de chiles: En el chile -

se pintan los círculos de aproximadamente 10 mm de diámetro y se recortan. Estos discos representan el 100 % p/v en los chiles mulato, ancho, pasilla, guajillo y chipotle; de 12 % para los chiles serrano y chilaca; de 10 % para el chile poblano; de 5 % para el chile jalapeño.

Medición de halos de inhibición: Cada tubo con agua peptonada se inocula con un microorganismo. Se toma 1 ml de esta agua inocuada y se pasa a una caja de Petri estéril (se deben hacer dos cajas para cada microorganismo), después se le agrega el medio de gelosa nutritiva estéril fundida y enfriada a 45°C, se homogeniza y se deja solidificar. Se meten al refrigerador por un tiempo de 2 h para que la gelosa esté dura y se puedan colocar mejor los discos.

Después de este tiempo, una caja se divide con un marcador en tres partes y otra en dos partes (ésto se hace para todos los microorganismos). En la caja en que hay tres divisiones se colocan las tres concentraciones más bajas, y en la de dos divisiones se coloca el disco de más alta concentración y un disco sin concentración (el cual se esteriliza antes de usarse) que sirve de blanco. Se incuba a 28°C/24 h. excepto para Pseudomonas, la cual se incuba a 35°C/24 h.

Las bacterias crecen en toda la gelosa, excep-

to donde quedan inhibidas por el chile, si éste tiene el poder de inhibirlas.

Después de la incubación se ven los resultados y si hay halos se procede a medirlos con una regla.

PRUEBA DE HALOS DE INHIBICION,  
UTILIZANDO ALCOHOL PARA HACER LAS DIFERENTES  
CONCENTRACIONES DE CHILES

En esta prueba se utilizó alcohol en lugar de agua para hacer las diferentes concentraciones, ya que - éste son más solubles todas las sustancias que contiene el chile. La desventaja que se presenta en esta prueba - es que el alcohol se volatiliza y la extracción de las - sustancias es menor.

Reactivos y Materiales

Los mismos que se utilizan en la "Prueba de halos - de inhibición en los distintos chiles, con los dife-  
rentes microorganismos".

Método

Se siguen los mismos pasos que para la "Prueba de halos de inhibición en los diferentes chiles, con los diferentes microorganismos", lo único que varía es que - en lugar de hacer las extracciones de chiles con agua se hacen con alcohol.

PRUEBA DE DIFUSION DEL CHILE  
EN GELOSA INCLINADA SEMBRANDO DESPUES LOS  
DIFERENTES MICROORGANISMOS

Se quería ver si la difusión del chile en gelo sa inclinada podría inhibir el crecimiento de los microorganismos, los cuales se siembran por medio de estría en la gelosa. El problema que presenta es que la difusión no es homogénea, porque al poner los discos conteniendo diferentes concentraciones de chile, estos se aglomeran y se quedan en un solo lugar, y también cuando se coloca chile molido a diferentes concentraciones éste se revuelve en el medio pero como el chile al ser molido no se muele perfectamente la difusión no puede ser tampoco homogénea.

Reactivos y Materiales

Discos de papel Whatman Núm 1 de aproximadamente 10 mm de diámetro.

Discos de chiles.

Gelosa nutritiva estéril.

Cepas puras de: Salmonella typhi, Shigella dysenteriae, Leuconostoc mesenteroides, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis, Erwinia spp, Xanthomonas spp, Serratia marcescens, Pseu

domonas aeruginosa.

Chiles: serrano, jalapeño, poblano, chilaca, ancho, pasilla, mulato, guajillo y chipotle.

Cajas de Petri estériles.

Mechero.

Asa con porta asa.

Método

Preparación de los discos con diferentes concentraciones: Se siguen los mismos pasos que para la preparación de discos en la "Prueba de halos de inhibición en los diferentes chiles, con los diferentes microorganismos".

Preparación de discos de chile: Se toma un chile y se recorta un círculo de aproximadamente 10 mm de diámetro. Se esterilizan los círculos a 120°C ó 1.1 atm/15 min.

Difusión del chile: Se toman 7 discos embebidos en una concantración y se colocan en una caja de Petri, después se agrega el medio de gelosa nutritiva estéril fundida y enfriada a 45°C, se inclinan las cajas y se dejan solidificar.

Una vez solidificadas se meten al refrigerador por un día para que el chile se difunda.

Se toma una asada de un microorganismo y se siembra por estría en la caja de gelosa inclinada refri-

gerada. Se incuba a 28°C/24 h excepto para Pseudomonas,  
la cual se incuba a 35°C/24 h .

PRUEBA DE INOCULACION EN  
CHILES EN FORMA DE SALSAS, CON LOS DIFERENTES  
MICROORGANISMOS

Se trata de imitar una salsa tipo casero, para lo cual se utiliza chile asado y chile cocido inoculándose después éstos, a estas salsas no se les puso caldo nutritivo como se hizo en la "Prueba de inoculación de chiles neutros y sin neutralizar" sino agua, ya que las amas de casa utilizan ésta para moler sus salsas. También se hicieron pruebas esterilizando las salsas de chile asado o cocido, para ver si éstas inhibían el crecimiento de los microorganismos.

Aquí se utilizan los microorganismos en forma individual y en forma combinada para inocular las salsas. Se hacen concentraciones de 70 y 80 % p/v para los diferentes chiles, no tomándose en cuenta la humedad de éstos para hacer las salsa.

Reactivos y Materiales

Tubos con agua peptonada estéril al 0.1%.

Agua peptonada estéril al 0.1%.

Gelosa nutritiva.

Licuadora.

Cajas de Petri estériles y no estériles.

Pipetas estériles de 1 ml.

Mechero.

Asa con porta asa.

Agua de garrafón.

Cepas puras de: Salmonella typhi, Shigella dysenteriae, Leuconostoc mesenteroides, Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis, Serratia marcescens, Escherichia coli, Erwinia spp, Xanthomonas spp, Pseudomonas aeruginosa.

Chiles: serrano, jalapeño, poblano, chilaca, ancho, pasilla, mulato, guajillo y chipotle.

### Método

Preparación de las salsas: Se pesa el chile, para concentraciones de 80% p/v en chile mulato, pasilla, ancho, guajillo y chipotle (sin tomar en cuenta la humedad de éstos), y de 70% p/v para el chile jalapeño (sin tomar en cuenta su humedad).

Chile asado. El chile se pone a asar, una vez que está frío se muele en la licuadora y se le agrega la cantidad de agua que le corresponde a esa concentración (sin tomar en cuenta la humedad de los chiles). Se toman dos cucharadas soperas de esa salsa y se coloca en la caja de petri (se hacen dos cajas para cada microorganismo), así se procede con las demás salsas. Como se hacen dos cajas para cada microorganismo y para las diferentes concentraciones, la mitad de estas cajas se meten a esterili-

lizar a 120°C ó 1.1 atm/15 min, y la otra mitad no se esterilizan.

Chile cocido. El chile se pone a cocer aproximadamente 10 min con la mitad de agua que le corresponde a la concentración con que se esta trabajando, una vez - frío, se pone en la licuadora agregando el agua de co-cción (la cual se mide para verificar el volumen inicial) y se agrega el agua que falta para completar el volumen que corresponde a esa concentración. Se toma dos cucharadas soperas de esta salsa y se coloca en una caja de Pe-tri no estéril (se hacen dos cajas para cada microorga-nismo). La mitad de las cajas se esterilizan a 120°C ó - 1.1 atm/15 min, y la otra mitad no se esteriliza.

Inoculación de las salsas: Cada tubo con agua peptonada se inocula con un tipo de microorganismo y o-tros tubos con una mezcla de ellos.

Las cajas de Petri con chile estéril y no este-ril se inoculan con 1 ml del agua peptonada inoculada de un microorganismo. La inoculación de chile con diferen-tes microorganismos sólo se hizo para el chile guajillo asado y estéril, a este chile se le agregó 1 ml del agua peptonada inoculada con diferentes microorganismos. Se - deja una caja de Petri de cada chile y de cada concentra-ción sin inocular, que nos sirven de blanco. Incubar a 28°C/24 h excepto Pseudomonas, la cual se incubaba a 35°C/

24 h.

Las cajas que presentan crecimiento no se re-  
siembran, nada más se toman los resultados. A las cajas  
que no presentan crecimiento se les agrega 5 ml de agua  
peptonada estéril y se deja reposar 5 min, después de --  
ese tiempo se toma 1 ml de esa agua peptonada y se pone  
en una caja de Petri estéril, a la cual se le agrega ge-  
losa nutritiva estéril fundida y enfriada a 45°C y se de-  
ja solidificar. Incubar a 28°C/24 h excepto Pseudomonas,  
la cual se incuba a 35°C/24 h .

Se anotan los resultados que presentan las ca-  
jas de petri incubadas.

## PRUEBA DE CHILE CON ALIMENTOS

La finalidad de esta prueba es ver si el chile puede inhibir a los microorganismos presentes en diferentes alimentos. Por esto se untan con chile unas salchichas Viena de la marca Zwan y unos quesos frescos que se compraron en el mercado de Iguala, Gro; y se mantienen en refrigeración por un tiempo de tres meses.

### Material

Chiles: mulato, ancho, guajillo, chipotle, asados y cocidos.

Salchichas Viena de la marca Zwan.

Quesos frescos.

Refrigerador a una temperatura de 6°C.

Papel aluminio, Marcador.

### Método

Preparación del chile asado y cocido: Se utilizan las salsa de la "Prueba de inoculación de salsas con los diferentes microorganismos".

Preparación de los alimentos: De las salsas asadas y cocidas se toma el chile para untar a las salchichas y a los quesos, después se envuelven en el papel aluminio y se meten en un refrigerador con una temperatura de 6°C. Después de ese tiempo se sacan los alimentos y se anotan los resultados.

PRUEBA DE ESTERILIZACION  
CON CLORURO DE MERCURIO

Para poder esterilizar el chile sin uso de la autoclave se utiliza el cloruro de mercurio al 0.1%, en el cual se pusieron los chiles por un tiempo de 5 min. Se incuban los chiles a 28°C/24 h. Los resultados que se obtuvieron fueron de crecimiento de hongos, por lo cual - no se utilizó este método.

**C A P I T U L O   I V**

**RESULTADOS**

**DETERMINACION DE HUMEDAD**

<b>CHILE</b>	<b>%</b>
<b>Serrano</b>	<b>88.75</b>
<b>Jalapeño</b>	<b>95.42</b>
<b>Poblano</b>	<b>90.21</b>
<b>Chilaca</b>	<b>87.98</b>
<b>Mulato</b>	<b>13.51</b>
<b>Pasilla</b>	<b>5.45</b>
<b>Ancho</b>	<b>15.96</b>
<b>Chipotle</b>	<b>5.03</b>
<b>Guaajillo</b>	<b>26.79</b>

DETERMINACION DE VITAMINA C

CHILE	VITAMINA C (En 100g de chile)
Serrano	31.74 mg
Jalapeño	38.20 mg
Poblano	67.64 mg
Chilaca	149.60 mg
Mulato	38.12 mg
Pasilla	27.90 mg
Ancho	25.00 mg
Chipotle	5.47 mg
Guajillo	79.76 mg

DETERMINACION DE pH

CHILE	pH
Serrano	6.00
Jalapeño	5.60
Poblano	5.15
Chilaca	6.05
Mulato	4.85
Pasilla	4.90
Ancho	4.85
Chipotle	4.85
Guaajillo	4.90

DETERMINACION DE ACIDEZ

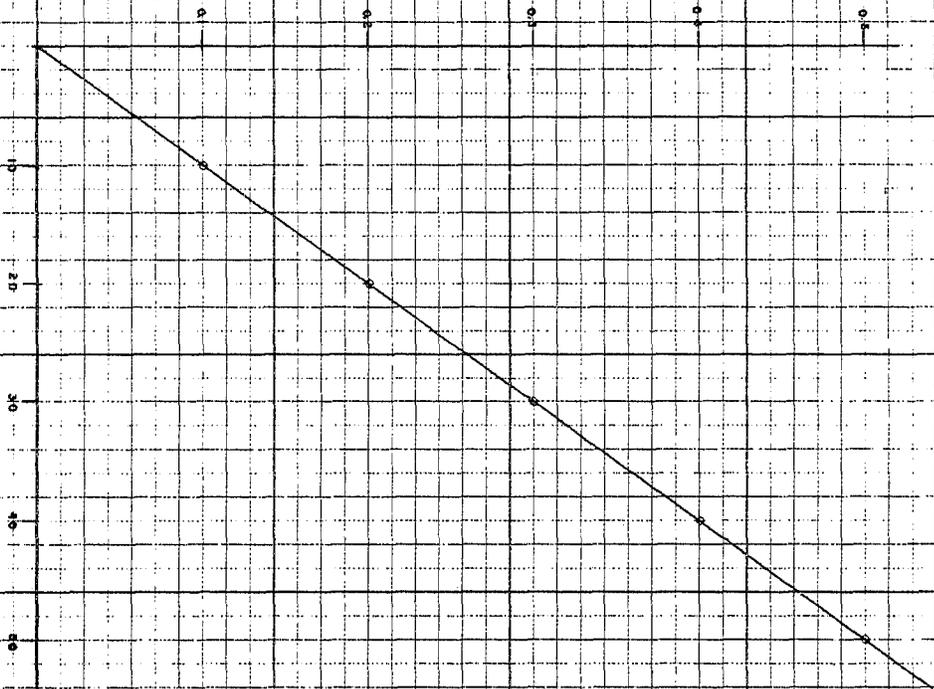
CHILE	% (Acidez en ácido ascórbico)
Serrano	0.0528
Jalapeño	0.0352
Poblano	0.088
Chilaca	0.0513
Mulato	0.704
Pasilla	0.8096
Ancho	0.528
Chipotle	0.352
Guaajillo	0.352

DETERMINACION DE CAPSAICINA

CHILE	%
	(En base seca)
Serrano	0.611
Jalapeño	0.664
Poblano	0.536
Chilaca	0.1875
Mulato	1.156
Pasilla	1.277
Ancho	1.232
Chipotle	1.031
Guaajillo	1.277

ABSORBANCIA A 281 nm

$\mu\text{g}$  CAPSAICINA / ml



CUENTA DE BACTERIAS

CHILE	MICROORGANISMOS/GRAMO
Serrano	1,800,000
Jalap�e�o	30,000
Poblano	2,300,000
Chilaca	12,400,000
Mulato	30,000
Pasilla	600,000
Ancho	700,000
Chipotle	1,100,000
Guajillo	100,000

CUENTA DE HONGOS

CHILE	HONGOS/GRAMO
Serrano	30,000
Jalapeño	30
Poblano	30,000
Chilaca	4,000
Mulato	17,000
Pasilla	30,000
Ancho	30,000
Chipotle	80,000
Guaajillo	70,000

PRUEBA DE INOCULACION EN LOS  
CHILES CON LOS DIFERENTES MICROORGANISMOS

		MICROORGANISMOS									
		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
CHILE											
CONC	SERRANO										
10%		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11%		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12%		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CHILE											
CONC	JALAPEÑO										
4.0%		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4.5%		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5.0%		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- no inhibió

\* inhibió

CONTINUA HOJA 2

MICROORGANISMOS

CHILE		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
CONC	POBLANO										
8.0%		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9.0%		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10.0%		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	CHILE										
CONC	CHILACA										
10.0%		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11.0%		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12.0%		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- no inhibió

+ inhibió

CONTINUA HOJA 3

## MICROORGANISMOS

		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
	CHILE										
CONC	MULATO										
40%		+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
60%		+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
80%		+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
	CHILE										
CONC	PASILLA										
40%		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60%		+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
80%		+	+	-	-	-	-	-	-	-	+

- no inhibió

+ inhibió

CONTINUA HOJA 4

## MICROORGANISMOS

		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconofloc</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
	CHILE										
CONC	ANCHO										
40%		+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
60%		+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
80%		+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
	CHILE										
CONC	CHIPOTLE										
40%		+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
60%		+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
80%		+	+	+	+	-	-	+	+	+	+

- no inhibió

+ inhibió

CONTINUA HOJA 5

		MICROORGANISMOS									
CHILE		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
CONC	GUAJILLO										
40%		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60%		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
80%		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

- no inhibi6

+ inhibi6

PRUEBA DE INOCULACION EN  
CHILES NEUTRALIZADOS CON LOS DIFERENTES MICROORGANISMOS

MICROORGANISMOS

CHILE SERRANO		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
CONC	NEUTRO										
10%											
11%											
12%											
CHILE JALAPEÑO											
CONC	NEUTRO										
4.0%											
4.5%											
5.0%											

- no inhibió

+ inhibió

CONTINUA HOJA 2

MICROORGANISMOS

		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
CHILE											
POBLANO											
CONC	NEUTRO										
	8.0%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9.0%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	10.0%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CHILE											
CHILACA											
CONC	NEUTRO										
	10%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	11%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	12%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

- no inhibi6  
 + inhibi6

CONTINUA HOJA 3

MICROORGANISMOS

		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
CHILE											
MULATO											
CONC	NEUTRO										
40%		+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
60%		+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
80%		+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
CHILE											
PASILLA											
CONC	NEUTRO										
40%		+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
60%		+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
80%		+	+	+	+	-	-	+	+	+	+

- no inhibi6

+ inhibi6

CONTINUA HOJA 4

## MICROORGANISMOS

		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
	CHILE										
	ANCHO										
CONC	NEUTRO										
40%		+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
60%		+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
80%		+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
	CHILE										
	CHIPOTLE										
CONC	NEUTRO										
40%		+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
60%		+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
80%		+	+	+	+	-	+	-	+	+	+

- no inhibi6  
+ inhibi6

CONTINUA HOJA 5



		MICROORGANISMOS									
CHILE		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
GUAJILLO											
CONC	NEUTRO										
40%		-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
60%		-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
80%		-	-	+	+	+	-	-	+	-	-

- no inhibi6

+ inhibi6

PRUEBA DE HALOS INHIBICION  
EN LOS DISTINTOS CHILES CON LOS DIFERENTES MICROORGANISMOS

		MICROORGANISMOS									
		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
	CHILE										
CONC	SERRANO										
DISCO CON	9.5%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DISCO CON	10%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DISCO CON	11%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DISCO CON	12%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	CHILE										
CONC	JALAPEÑO										
DISCO CON	3.5%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DISCO CON	4.0%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DISCO CON	4.5%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DISCO CON	5.0%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- no inhibió

+ inhibió

CONTINUA HOJA 2

MICROORGANISMOS

CHILE		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
CONC	POBLANO										
DISCO CON	7.5%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DISCO CON	8.0%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DISCO CON	9.0%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DISCO CON	10%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CHILE											
CONC	CHILACA										
DISCO CON	9.5%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DISCO CON	10%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DISCO CON	11%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DISCO CON	12%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- no inhibi6  
 + inhibi6

CONTINUA HOJA 3

## MICROORGANISMOS

		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>	
CHILE												
CONC	MULATO											
DISCO CON	40%	2	-	4	6	-	8	-	-	-	-	
DISCO CON	60%	2	-	4	10	7	8	-	-	-	-	
DISCO CON	80%	3	-	4	10	7	9	-	-	-	-	
DISCO CON	100%	10	3	4	10	9	9	-	-	-	-	
CHILE												
CONC	PASILLA											
DISCO CON	40%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
DISCO CON	60%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
DISCO CON	80%	2	-	8	-	-	-	-	-	-	-	
DISCO CON	100%	5	-	9	-	-	5	-	-	2	-	

- no inhibió

El 2, 3, etc. representan los mm de los halos.

CONTINUA HOJA 4

## MICROORGANISMOS

		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
CHILE											
CONC	ANCHO										
DISCO	CON 40%	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-
DISCO	CON 60%	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-
DISCO	CON 80%	7	-	9	4	-	4	-	-	2	-
DISCO	CON 100%	8	-	10	5	3	7	-	-	5	-
CHILE											
CONC	CHIPOTLE										
DISCO	CON 40%	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
DISCO	CON 60%	-	-	1	-	-	2	-	-	-	-
DISCO	CON 80%	-	-	2	1	-	3	-	-	-	-
DISCO	CON 100%	-	-	4	4	3	4	-	2	-	-

- no inhibió

El 2, 3, etc, representan los mm de los halos

CONTINUA HOJA 5

## MICROORGANISMOS

		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
CONC	CHILE										
	GUAJILLO										
DISCO CON	40%	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
DISCO CON	60%	1	1	2	1	1	2	1	1	1	1
DISCO CON	80%	1	1	2	1	1	3	1	1	1	1
DISCO CON	100%	1	1	2	1	2	4	1	1	5	1

- no inhibió

El 2, 3, etc, representan los mm de los halos

PRUEBA DE DIFUSION DEL CHILE  
EN GELOSA INCLINADA SEMBRANDO DESPUES LOS DIFERENTES MICROORGANISMOS

CHILE PASILLA		MICROORGANISMOS									
		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
CONC											
40%		-	-	10	-	-	10	-	-	-	-
60%		-	-	10	-	-	12	-	-	12	-
80%		-	-	11	42	-	13	-	-	12	-
100%		11	9	11	13	8	13	-	-	12	13

- no inhibi6

El 2, 3, etc representan los mm de los halos

PRUEBA DE HALOS DE INHIBICION,  
 UTILIZANDO ALCOHOL PARA HACER LAS DIFERENTES CONC. DE CHILES

		MICROORGANISMOS									
CHILE		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
CONC	PASILLA										
40%											
60%											
80%											

- no inhibi6

PRUEBA DE INOCULACION EN CHILES  
EN FORMA DE SALSAS CON LOS DIFERENTES MICROORGANISMOS

		MICROORGANISMOS									
		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
	CHILE MULATO										
CONC	ASADO										
80%	ESTERIL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	CHILE ANCHO										
CONC	ASADO										
80%	ESTERIL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	CHILE GUAJILLO										
CONC	ASADO										
70%	ESTERIL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

- no inhibió

+ inhibió

CONTINUA HOJA 2

		MICROORGANISMOS									
		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
	CHILE										
	PASILLA										
CONC	ASADO										
80%	ESTERIL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	CHILE										
	CHIPOTLE										
CONC	ASADO										
80%	ESTERIL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	CHILE										
	JALAPEÑO										
CONC	ESTERIL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
80%											

- no inhibió

+ inhibió

CONTINUA HOJA 3

## MICROORGANISMOS

		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
	CHILE										
	MULATO										
CONC	ASADO										
80%	NO ESTERIL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	CHILE										
	ANCHO										
CONC	ASADO										
80%	NO ESTERIL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	CHILE										
	GUAJILLO										
CONC	ASADO										
70%	NO ESTERIL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- no inhibió y hubo crecimiento abundante de mohos  
+ inhibió

CONTINUA HOJA 4

		MICROORGANISMOS									
		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
	CHILE										
	PASILLA										
CONC	ASADO										
80%	NO ESTERIL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	CHILE										
	CHIPOTLE										
CONC	ASADO										
80%	NO ESTERIL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	CHILE										
	JALAPENO										
CONC	ASADO										
80%	NO ESTERIL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- no inhibió y hubo crecimiento abundante de mohos  
 + inhibió

CONTINUA HOJA 5

## MICROORGANISMOS

		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
	CHILE										
	MULATO										
CONC	COCIDO										
80%	ESTERIL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	CHILE										
	ANCHO										
CONC	COCIDO										
80%	ESTERIL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	CHILE										
	GUAJILLO										
CONC	COCIDO										
70%	ESTERIL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

- no inhibió

+ inhibió

CONTINUA HOJA 6

## MICROORGANISMOS

		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
	CHILE										
	PASILLA										
CONC	COCIDO										
80%	ESTERIL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	CHILE										
	CHIPOTLE										
CONC	COCIDO										
80%	ESTERIL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	CHILE										
	JALAPENO										
CONC	COCIDO										
70%	ESTERIL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

- no inhibió

+ inhibió

CONTINUA HOJA 7

## MICROORGANISMOS

		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
	CHILE										
	MULATO										
CONC	COCIDO										
80%	NO ESTERIL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	CHILE										
	ANCHO										
CONC	COCIDO										
80%	NO ESTERIL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	CHILE										
	GUAJILLO										
CONC	COCIDO										
80%	NO ESTERIL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

- no inhibió

+ inhibió

CONTINUA HOJA 8

		MICROORGANISMOS									
		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
	CHILE										
	PASILLA										
CONC	COCIDO										
80%	NO ESTERIL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	CHILE										
	CHIQUOTE										
CONC	COCIDO										
80%	NO ESTERIL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	CHILE										
	JALAFENO										
CONC	COCIDO										
80%	NO ESTERIL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- no inhibi6

+ inhibi6

CONTINUA HOJA 9

## MICROORGANISMOS

CHILE GUAJILLO		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
CONC	ASADO										
70%	ESTERIL										
	1)				+				+	+	
	2)					+	+				
	3)				+	+					
	4)	+				+	+				
	5)	+				+					
	6)								+		+
	7)		+	+							
	8)	+					+	+			
	9)		+					+			
	10)			+	+	+					

- no inhibió

+ inhibió a la mezcla de esos microorganismos.

CONTINUA HOJA 10

## MICROORGANISMOS

CHILE		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
CONC	ASADO										
70%	ESTERIL	11)	+							+	
		12)	+		+					+	
		13)				+			+		
		14)	+	+							
		15)	+					+			
		16)			+		+				
		17)			+						+
		18)							+		+
		19)	+				+				
		20)								+	+
		21)	+						+		

+ inhibió a la mezcla se esos microorganismos.

CONTINUA HOJA 11

		MICROORGANISMOS									
		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
CHILE											
CONC	GUAJILLO										
	COCIDO										
70%	ESTERIL	1)	+	+							
		2)	+	+							
		3)			+				+		
		4)		+						+	
		5)			+					+	+
		6)				+			+		
		7)							+		+
		8)	+						+		
		9)		+	+	+					
		10)		+	+						

+ inhibió a la mezcla de esos microorganismos.

CONTINUA HOJA 12

		MICROORGANISMOS									
		<u>Pseudomonas</u>	<u>Shigella</u>	<u>Salmonella</u>	<u>Leuconostoc</u>	<u>Streptococcus</u>	<u>Staphylococcus</u>	<u>Escherichia</u>	<u>Serratia</u>	<u>Xanthomonas</u>	<u>Erwinia</u>
CHILE											
GUAJILLO											
CONC	COCIDO										
70%	ESTERIL	12)	+				+	+			
		13)								+	+
		14)	+				+				
		15)				+	+	+			
		16)				+	+	+			
		17)	+		+		+				
		18)	+			+					
		19)			+	+					
		20)		+				+			

+ inhibió a la mezcla de esos microorganismos.

PRUEBA DE CHILE CON ALIMENTOS

ALIMENTO	CHILE	TRATAMIENTO	RESULTADOS
Queso fresco	mulato	asado	crecimiento de hongos
Queso fresco	mulato	cocido	crecimiento de hongos
Queso fresco	ancho	asado	crecimiento de hongos
Queso fresco	ancho	cocido	crecimiento de hongos
Queso fresco	guajillo	asado	crecimiento de hongos
Queso fresco	guajillo	cocido	crecimiento de hongos
Salchicha	chiPotle	asado	crecimiento de hongos
Salchicha	chiPotle	cocido	crecimiento de hongos
Salchicha	mulato	asado	crecimiento de hongos
Salchicha	mulato	cocido	crecimiento de hongos
Salchicha	ancho	asado	crecimiento de hongos
Salchicha	ancho	cocido	crecimiento de hongos

C A P I T U L O   V

## DISCUSION

1) Por los resultados obtenidos en las diferentes pruebas hechas a los chiles, vemos que sólo el 55.5% de éstos funcionan como bactericidas. Podemos ver también - que los chiles secos son los que inhiben a las diferentes bacterias.

2) Las bacterias que fueron principalmente inhibidas fueron las gram negativas y en una proporción menor las gram positivas, indicándonos esto que el inhibidor que posee el chile y que funciona como bactericida, puede ser de amplio espectro, ya que actúa sobre estos dos tipos de bacterias.

3) La diferencia de resultados que presenta la prueba de "Medición de halos de inhibición" y la de "Inoculación en chiles neutro y sin neutralizar", se debe posiblemente a que en la prueba de discos no se extrae totalmente la sustancia inhibidora que posee el chile.

Vemos también que existe mucha diferencia en los resultados obtenidos en las tres pruebas anteriores y los de la prueba de: "Imitación de salsas", esto se puede deber a que en ésta última prueba se usó agua para hacer las salsas y en las pruebas de "Medición de halos de inhibición", "Inoculación de chiles neutros y sin neu

tralizar" se usaba caldo nutritivo para moler los chiles y éste ayuda a que las condiciones de crecimiento para los microorganismos sean mejores, por lo cual hay mayor crecimiento en las pruebas en las que se utiliza caldo nutritivo. Pude ser que lo dicho anteriormente no influya en la diferencia de los resultados y que esta diferencia sea porque los chiles secos pasan por un proceso de secado, y por lo tanto el % de sólidos aumenta, lo cual nos indica que el agente de inhibición también aumenta.

4) Por los resultados obtenidos en la prueba de: "Medición de halos de inhibición" vemos que el chile ancho y mulato son los que presentan halos de inhibición más grandes; en la de "Imitación de salsas" el chile mulato inhibe a todos los microorganismos a pesar de no estar estéril cosa que no sucede con el chile ancho. Por lo dicho anteriormente se deduce que el chile mulato es el que tiene mayor poder bactericida.

5) No fue posible saber a qué sustancia se debe el poder bactericida que presenta el chile, ya que no se sabe totalmente la composición química de éste. Al principio se pensó que era debido a la capsaicina ya que los chiles secos eran los que mayor cantidad poseían y eran los que presentaban poder de inhibición, pero al observar los resultados esto no era posible, ya que el chile pasilla -

era el que mayor cantidad de capsaicina tenía (1.277%) y no inhibía totalmente, por el contrario el chile mulato poseía menor cantidad (1.156%) y presentó mayor inhibición.

6) La prueba que se hizo con la carne untada de chile y el queso untado de chile, no fue satisfactoria ya que — después de tres meses estos alimentos muestran un gran — crecimiento de mohos, pero esto es debido a que los chiles secos tienen una gran carga de mohos, y es posible que las esporas resistan la esterilización y por lo tanto en el alimento encuentran un medio propicio para su — crecimiento.

7) Debido a que los microorganismos no se encuentran en los alimentos en forma aislada sino en forma combinada, se hizo una prueba inoculando al chile guajillo asado es t<sub>é</sub>ril y cocido est<sub>é</sub>ril con diferentes mezclas de los microorganismos. El resultado obtenido fue inhibición de — las mezclas de los microorganismos.

C A P I T U L O   V I

## CONCLUSIONES

1) Los chiles que presentan poder bactericida son: mulato, chipotle, guajillo, pasilla y ancho, en concentraciones de 40, 60, 80 y 100% p/v. Para que se obtengan mejores resultados en la inhibición de microorganismos, se recomienda que los chiles se sometan al proceso de esterilización antes de ser usados, ya que éstos presentan una contaminación muy grande de mohos, la cual es perjudicial, sobre todo cuando untamos los alimentos con el chile, porque llena de mohos al producto en lugar de conservarlos.

2) De los chiles utilizados, el que presenta mayor poder bactericida es el chile mulato.

3) Los chiles frescos no presentan poder bactericida debido posiblemente a que tienen poco contenido de sólidos y por lo tanto el compuesto que inhibe está en menor cantidad que en los chiles secos. No se trató de igualar las concentraciones de sólidos ya que se tenía que someter a los chiles al proceso de secado y esto podría cambiar sus propiedades originales; además de que en esta investigación que se pretendía trabajar con los chiles en la forma en que son consumidos.

4) Las bacterias inhibidas principalmente fue-

ron: Serratia, Pseudomonas, Xanthomonas, Escherichia, --  
Erwinia, Leuconostoc, Shigella y Salmonella, o sea las --  
gram negativas; presentando dificultad Streptococcus y  
Staphylococcus que son gram positivas. Indicándonos es-  
to que el inhibidor que posee el chile y que funciona co  
mo bactericida, puede ser de amplio espectro, ya que ac-  
túa sobre estos dos tipos de bacterias.

5) Por los resultados obtenidos se puede decir  
que se cumplió con el objetivo de esta investigación, --  
por lo cual se recomienda que se trabaje con otros tipos  
de chiles y también con otros microorganismos, que se in-  
vestige cuál es la sustancia que actúa como inhibidora.  
Esto nos daría la posibilidad de explotar a un alimento  
que sólo se le considera como condimento de sabor agrada-  
dable que se consume en la dieta diaria de la población  
mexicana.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Aragón, M.E. Reyna, C. Villa, I. "Manual de Prácticas de Nutrición". Fac. de Química. U.N.A.M. México. 1969.
- 2.- Aragón, M.E. Reyna, C. Villa, I. "Manual de Prácticas de Química de Alimentos". Fac. de Química. U.N.A.M. México. 1969.
- 3.- Braver, O. Ralsh, W. Richarson, J.R. "El chile, indicaciones generales para su cultivo". El Campo. México. 23(784);10-16;20-32.1957.
- 4.- Brock, D.T. "Biología de los Microorganismos". Editorial Omega.S.A. 1<sup>a</sup> Edición. Pág.529-36; 566-69. 1973.
- 5.- Buchanan, R.E. & Gibbons, N.E. "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology". Editorial Board. The Williams, Wilkins Company, Baltimore. Eighth Edition. Pág.290-332; 483-87; 490-504. 1974.
- 6.- Burdon, W. "Microbiología". Editorial Publicaciones - Culturales, México. 1<sup>a</sup> Edición. Pág.310; 529. 1971.
- 7.- Conn, E. y Stumpf, P.K. "Bioquímica Fundamental". Editorial Limusa Wiley, S.A. México. 2<sup>a</sup> Edición. Pág. 195-6. 1972.
- 8.- Cortés, B. "El cultivo del chile". Avance Agrícola Ganadero, México. 1(7);7-15. 1970.

- 9.- Cortés, P.B. y Muñoz, F. "Taxonomía y Distribución geográfica de los chiles cultivados en México". Vida Rural en México. 10(106);24-32. 1967.
- 10.- Chipault, J.R. Mizuno, G.R. Hawkinz, J.M. Anluntberg, W. O. "The Antioxidant Properties of Natural Spices". Food Res. 17:4. 1952.
- 11.- Escobar, R. "Enciclopedia Agrícola". Conafrut, México. Tomo I. Pág.615-16; 1015-20. 1956.
- 12.- Frazier. "Microbiología de los Alimentos". Editorial Acribia; Zaragoza, España. 2ª Edición. Pág.51-60; 70-73; 93-95; 205; 251; 262; 266-68; 452-54. 1972.
- 13.- Heilbron, D.S.O. "Dictionary of Organic Compounds". - Oxford University Press, New York. Vol I. Pág.424 y 427. 1953.
- 14.- Jay, J.a. "Microbiología Moderna de los Alimentos". Editorial Acribia; Zaragoza, España. Pág.14-17. 1973.
- 15.- "Manual de Prácticas de Microbiología de Alimentos". Fac de Química. U.N.A.M. México. 1970.
- 16.- Meyer, L. "Food Chemistry". Reinhold Publishing Corporation, New York. Pág.37. 1960.
- 17.- Nelson, E.K. "The Constitution of Capsaicin, The Pungent principle of Capsicum". J. Am Chem Soc. 41:1115-19. 1919.
- 18.- Ramírez, R.M. Vierna, L.G. Gómez, C.G. "Manual de Práct-