

UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



“CONTENIDO DE AMINAS BIÓGENAS (Histamina y Tiramina) Y SU RELACIÓN CON CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS EN MUESTRAS DE CHICHA DE JORA ELABORADAS EN LA PROVINCIA DE ABANCAY, APURÍMAC”

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL

Bach. Julissa Abigail PERICHE PEREZ

ASESOR: Victor Justiniano HUAMANI MELENDEZ

Abancay, agosto del 2016

PERÚ



**CONTENIDO DE AMINAS BIÓGENAS (Histamina y Tiramina) Y SU RELACIÓN CON
CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS EN MUESTRAS DE CHICHA DE JORA
ELABORADAS EN LA PROVINCIA DE ABANCAY, APURÍMAC**



**UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE
APURÍMAC**

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**“CONTENIDO DE AMINAS BIÓGENAS (Histamina y Tiramina) Y
SU RELACIÓN CON CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS EN
MUESTRAS DE CHICHA DE JORA ELABORADAS EN LA
PROVINCIA DE ABANCAY, APURÍMAC”**

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL

JULISSA ABIGAIL PERICHE PEREZ

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:



Ing. Alfredo Fernández Ayma

PRESIDENTE



Lic. Joffre Huamán Núñez

MIEMBRO



Ing. Lourdes Salcedo Sucasaca

MIEMBRO

DEDICATORIA

Este trabajo es dedicado a mi familia, por su incondicional apoyo durante mi desarrollo profesional, en especial para mis padres, que como objetivo de vida quieren ver a sus hijos superados.

A mis hermanos, porque su sola existencia me motivo a ser mejor cada día, para que se sientan orgullosos de su hermana mayor.



AGRADECIMIENTO

El presente trabajo de investigación va dirigido con una expresión de gratitud a Dios por brindarme la oportunidad de obtener otro triunfo profesional, y darme salud, sabiduría y entendimiento para lograr esta meta.

A mis padres por el gran esfuerzo que hicieron para poder educarme en las mejores condiciones posibles y reconocer cada mérito conseguido. A mis hermanos Sammy y Javier porque tuvimos que sacrificar muchos momentos juntos para lograr nuestras metas. A mis abuelitos y tíos, en especial a mi tío Aurelio, porque siempre estuvo orgulloso de mis triunfos.

Quisiera hacer extensiva mi gratitud a la Prof. Elena Quillama, docente sanmarquina con raíces apurimeñas (Chalhuanca – Aymaraes), quién aún en tierras lejanas sigue manteniendo viva la tradición de nuestra tierra, y tiene en su haber varios trabajos de investigación sobre la chicha de jora y otros productos oriundos del Perú. A ella le agradezco la orientación que me dio para la elección del tema de tesis y para la ejecución de la misma.

Especial reconocimiento para mis asesores de tesis, Ing. Víctor Huamani Meléndez y el Dr. Waldir Estela Escalante, por haberme brindado la oportunidad de recurrir a sus capacidades y conocimientos científicos, así como también haberme tenido paciencia para guiarme durante el desarrollo de la tesis. Al Ing. Victor Hugo Sarmiento Casavilca, por la orientación y ayuda que me brindo para la realización y culminación de la tesis.

..



A mis profesores a quienes les debo gran parte de mis conocimientos, gracias a su paciencia y enseñanza. Y un eterno agradecimiento a esta prestigiosa universidad que permitió a muchos jóvenes apurimeños tener una carrera profesional sin tener que dejar su tierra natal.

A mis compañeros de trabajo del laboratorio de General Control Group y ALS Corplab, por su incondicional apoyo en la ejecución de los ensayos requeridos para la tesis y por la disposición de los ambientes del laboratorio para la ejecución de los análisis.

Y por último gracias a todas a aquellas personas que estuvieron presente en vida apoyándome de una u otra manera en mi desarrollo personal y profesional.

A todos ellos, muchas gracias.

...



ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTO.....	ii
INDICE CONTENIDO.....	iv
INDICE CUADRO.....	vi
INDICE TABLAS.....	vii
INDICE FIGURAS.....	ix
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xii
CAPITULO I: INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Objetivo General.....	4
1.2. Objetivos específicos.....	4
CAPITULO II: MARCO TEORICO.....	5
2.1. CHICHA DE JORA.....	5
2.1.1. Producción y comercialización de chicha de jora en el Perú.....	5
2.1.2. Fórmulas de elaboración de algunas chichas de jora que se consumen en el Perú... ..	6
2.1.3. Elaboración de la chicha de jora en Apurímac.....	7
2.1.4. Elaboración de la chicha de jora en los distritos de Abancay y Tamburco.....	8
2.1.5. Principio tecnológico y proceso de elaboración de la chicha de jora.....	10
2.1.6. Características fisicoquímicas de chicha de jora.....	11
2.1.7. Composición microbiológica de la chicha de jora.....	13
2.1.8. Chicha de maíz y compuestos tóxicos.....	14
2.2. AMINAS BIÓGENAS (AB).....	16
2.2.1. Importancia de las aminas biógenas.....	16
2.2.2. Clasificación de aminas biógenas.....	17
2.2.3. Síntesis de aminas biógenas.....	18
2.2.4. Factores que influyen en la formación de aminas biógenas.....	19
2.2.5. Efectos fisiológicos adversos de las aminas biógenas.....	23
2.2.6. Límites permitidos de aminas biógenas en bebidas alcohólicas fermentadas.....	25
2.2.7. Contenido de aminas biógenas en bebidas alcohólicas fermentadas.....	26
2.2.8. Influencia de las etapas del proceso de elaboración de bebidas alcohólicas en la producción de aminas biógenas.....	29
2.3. MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE AMINAS BIÓGENAS.....	30
2.3.1. Cromatografía Líquida de Alta Performance – HPLC.....	32
CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS.....	38
3.1. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	38
3.1.1. Población.....	38
3.1.2. Método y diseño de investigación.....	38
3.1.3. Equipos, materiales y reactivos.....	42
3.1.4. Ensayos y metodología utilizada.....	43
CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	48

4.1. IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO PARA DETERMINACIÓN DE AMINAS BIÓGENAS EN MUESTRAS DE CHICHA DE JORA POR HPLC.....	48
4.1.1. Límite de detección y cuantificación.....	49
4.1.2. Linealidad y rango de trabajo.....	51
4.1.3. Efecto matriz (% recuperación).....	54
4.2. CONTENIDO DE AMINAS BIÓGENAS EN ABANCAY Y TAMBURCO.....	55
4.2.1. Recolección de muestras.....	55
4.2.2. Resultados para el análisis de aminos biógenos.....	55
4.2.3. Contenido de aminos biógenos por distrito y evaluación de los límites permisibles...	59
4.3. RESULTADOS PARA EL ANÁLISIS DE PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS.....	69
4.3.1. Resultados parámetros fisicoquímicos.....	69
4.3.4. Evaluación de la correlación entre parámetros fisicoquímicos y aminos biógenos.....	71
CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	75
BIBLIOGRAFÍA.....	77
ANEXOS.....	81



INDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Fórmulas de elaboración de algunas variedades de chicha de jora que se consumen en el Perú.....	6
Cuadro 2: Etapas seguidas para la elaboración de chicha de jora en Apurímac.....	7
Cuadro 3: clasificación de aminas biógenas.....	17
Cuadro 4: Amina biógena, Aminoácido precursor y enzimas responsables de su síntesis..	18
Cuadro 5: Descripción de equipos, materiales y reactivos.....	42



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Cantidad de agua utilizada para 1 arroba (11.5 kg) de jora.....	9
Tabla 2. Tiempo empleado para la cocción.....	9
Tabla 3. Etapas para la cocción del mosto.....	9
Tabla 4. Material del recipiente en el que se realiza la fermentación.....	9
Tabla 5. Producto y/o agente utilizado para la fermentación del mosto de jora.....	9
Tabla 6. Tiempo utilizado para la fermentación hasta que se inicia el consumo y/o venta.....	10
Tabla 7: características fisicoquímica de la fermentación natural de la chicha de jora...	12
Tabla 8: Resultados de la características fisicoquímicas de muestras de chicha reportados en diversos estudios.....	12
Tabla 9: Especies de bacterias lácticas capaces de sintetizar AB en vino.....	21
Tabla 10: Contenido de aminos biógenas en diferentes bebidas fermentadas.....	26
Tabla 11: Contenido de aminos biógenas en bebidas fermentadas tradicionales.....	28
Tabla 12. Límite de detección y cuantificación para cada amina biógena.....	50
Tabla 13. %Recuperación de aminos biógenas adicionadas.....	54
Tabla 14. Prueba t-student para una muestra (primera evaluación).....	60
Tabla 15. Prueba t-student para una muestra (segunda evaluación).....	60
Tabla 16. Resumen de resultados de parámetros fisicoquímicos.....	69
Tabla 17. Relación entre aminos biógenas y parámetros evaluados.....	71
Tabla 18. Resultados de las encuestas realizadas a diferentes chicherías.....	89
Tabla 19.a. Contenido de aminos biógenas en muestras de chicha de jora del distrito de Abancay	94
Tabla 19.b. Contenido de aminos biógenas en muestras de chicha de jora del distrito de Tamburco.....	96
Tabla 20.a. Parámetros fisicoquímicos en muestras de chicha de jora del distrito de Abancay.....	98
Tabla 20.b. Parámetros fisicoquímicos en muestras de chicha de jora del distrito de Tamburco.....	100
Tabla 21.1. Comparación del contenido de aminos biógenas de las muestras de chicha de jora con similar proceso de elaboración (Proceso 01).....	102
Tabla 21.2. Comparación del contenido de aminos biógenas de las muestras de chicha de jora con similar proceso de elaboración (Proceso 02).....	102
Tabla 21.3. Comparación del contenido de aminos biógenas de las muestras de chicha de jora con similar proceso de elaboración (Proceso 03).....	103
Tabla 21.4. Comparación del contenido de aminos biógenas de las muestras de chicha de jora con similar proceso de elaboración (Proceso 04).....	104
Tabla 22. ANOVA DE UN FACTOR (Histamina vs Chicha de jora)/ Distrito de Abancay..	113
Tabla 23. Prueba Tukey al 95% de confianza para la concentración de Histamina de las muestras de chicha de jora del distrito de Abancay.....	114
Tabla 24. ANOVA DE UN FACTOR (Histamina vs Chicha de jora)/ Distrito de Tamburco.....	114
Tabla 25. Prueba Tukey al 95% de confianza para la concentración de Histamina de las muestras de chicha de jora del distrito de Tamburco.....	115

Tabla 26. ANOVA DE UN FACTOR (Tiramina vs Chicha de jora)/ Distrito de Abancay..	116
Tabla 27. Prueba Tukey al 95% de confianza para la concentración de Tiramina de las muestras de chicha de jora del distrito de Abancay.....	117
Tabla 28. ANOVA DE UN FACTOR (Tiramina vs Chicha de jora)/ Distrito de Tamburco.....	118
Tabla 29. Prueba Tukey al 95% de confianza para la concentración de Tiramina de las muestras de chicha de jora del distrito de Tamburco.....	119
Tabla 30. Relación de parámetros fisicoquímicos adicionales.....	119



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: ciclo del proceso de fermentación de la chicha.....	11
Figura 2: Rutas biológicas de la formación de aminas biógenas por descarboxilación (Galleguillos, s.f.).....	19
Figura 3: Componentes del equipo HPLC.....	34
Figura 4: Proceso seguido para la determinación de aminas biógenas.....	45
Figura 5. Curva de calibración de los estándares de Histamina y Tiramina (25/07/2015)..	51
Figura 6. Curva de calibración de los estándares de Histamina y Tiramina (26/07/2015)..	52
Figura 7. Curva de calibración de los estándares de Histamina y Tiramina (27/07/2015)..	53
Figura 8. Representación gráfica del contenido de Histamina y Tiramina en las muestras de Chicha de Jora del distrito de Abancay.....	56
Figura 9. Representación gráfica del contenido de Histamina y Tiramina en las muestras de Chicha de Jora del distrito de Tamburco.....	57
Figura 10.a: cromatograma de la solución estándar de histamina y tiramina.....	58
Figura 10.b: cromatograma de una muestra de chicha de jora en estudio.....	58
Figura 11. Comparación de la concentración de histamina de las muestras de Chicha de jora del distrito de Abancay con el límite máximo permisible.....	61
Figura 12. Comparación porcentual de la concentración de histamina de las muestras de Chicha de jora del distrito de Abancay que superaron el límite permisible y las que se encuentran dentro del límite permisible.....	62
Figura 13. Comparación de la concentración de histamina de las muestras de Chicha de jora del distrito de Tamburco con el límite máximo permisible.....	63
Figura 14. Comparación porcentual de la concentración de histamina de las muestras de Chicha de jora del distrito de Tamburco que superaron el límite permisible y las que se encuentran dentro del límite permisible.....	63
Figura 15. Comparación de la concentración de Tiramina de las muestras de Chicha de jora del distrito de Abancay con el límite máximo permisible.....	64
Figura 16. Comparación porcentual de la concentración de tiramina de las muestras de Chicha de jora de la provincia de Abancay que superaron el límite permisible y las que se encuentran dentro del límite permisible.....	65
Figura 17. Comparación de la concentración de Tiramina de las muestras de Chicha de jora del distrito de Tamburco con el límite máximo permisible.....	66
Figura 18. Comparación porcentual de la concentración de Tiramina de las muestras de Chicha de jora del distrito de Tamburco que superaron el límite permisible y las que se encuentran dentro del límite permisible.....	66
Figura 19. Mapa del distrito de Abancay.....	86
Figura 20. Mapa del distrito de Tamburco.....	87
Figura 21. Mapa con la distribución de chicherías en Abancay y Tamburco.....	88
Figura 22. Concentración de Tiramina e Histamina en muestras de Chicha de jora comparada por el proceso de elaboración.....	104
Figura 23. Concentración promedio de Tiramina e Histamina en muestras de Chicha de jora comparada por el proceso de elaboración.....	105
Figura 24. Proporción Tiramina/ Histamina en las muestras de chicha de jora.....	107

Figura 25: Sala de balanza para el pesado de las muestras de chicha de jora.....	109
Figura 26: muestra de chicha de jora.....	109
Figura 27: Extractos de chicha de jora listas para el análisis de aminas biogenas.....	110
Figura 28: Derivatizacion de las muestras con cloruro de dansilo.....	110
Figura 29: Incubacion de las muestras derivatizadas.....	111
Figura 30: Equipo HPLC utilizado para el análisis de aminas biogenas en chicha de jora...	111
Figura 31: Sistema cromatográfico para el análisis de aminas biógenas, cromatograma de estándares de aminas biógenas (histamina y tiramina).....	112



RESUMEN

Las aminas biógenas juegan un papel importante en muchas funciones fisiológicas; pero al ser consumidas en altas concentraciones pueden producir efectos adversos severos, llevando a establecer concentraciones límites para el consumo (8 mg Histamina/L de bebida y 25 mg Tiramina/L de bebida). En consecuencia, el objetivo de esta investigación fue evaluar el contenido de aminas biógenas en muestras de chicha de jora de los distritos de Abancay y Tamburco y determinar la relación entre las características fisicoquímicas y la presencia de estas sustancias tóxicas.

Se verificó el método NCh2637.Of 2001 (método por cromatografía líquida) para el análisis de histamina y tiramina en muestras de chicha de jora, y se obtuvieron resultados aceptables para el rango lineal ($r = 0.999$ en promedio) y % recuperación (98.06% para histamina y 99.21% para tiramina), además se reportaron bajos valores para los límites de cuantificación (1.56 mg/L para histamina y 2.00 mg/L para tiramina), comprobando una adecuada sensibilidad para la determinación de aminas biógenas de las muestras en estudio.

Entre las 83 muestras analizadas se encontraron valores de hasta 37.53 mg/L para histamina y 77.96 mg/L para tiramina. De estas muestras, el 7% en Abancay y 12% en Tamburco tuvieron concentraciones de histamina ≥ 8 mg/L, y para el contenido de tiramina el 16% de las muestras tanto de Abancay como de Tamburco fue ≥ 25 mg/L.

Para la relación aminas biógenas - parámetros fisicoquímicos, únicamente se presentó una relación significativa ($P < 0.05$) del %acidez con el contenido de Histamina, mostrando un coeficiente de correlación $r = 0.502$.

Palabras claves: aminas biógenas, chicha de jora, Histamina, Tiramina, HPLC.

ABSTRACT

Biogenic amines play an important role in many physiological functions; but when consumed in high concentrations may produce severe adverse effects, leading to establish concentration limits for consumption (8 mg Histamine/ L of beverage and 25 mg tyramine / L of beverage). Consequently, the aim of this research was to evaluate the biogenic amines content in samples of «chicha de jora» from Abancay and Tamburco districts and determine the relationship between the physicochemical characteristics and the presence of these toxic substances.

When verifying NCh2637.Of 2001 method (liquid chromatography method) for analysis of histamine and tyramine in samples chicha, acceptable results for the linear range ($r = 0.999$ on average) and % recovery (98.06% for histamine and 99.21% for tyramine) were obtained. Also, low values for the limits of quantification were reported (1.56 mg / L for histamine and 2.00 mg / L for tyramine), ensuring adequate sensitivity for the determination of biogenic amines of the samples studied.

In the 83 samples analyzed were found values up to 37.53 mg / L for histamine and 77.96 mg / L for tyramine. Of these samples, 7% in Abancay and 12% in Tamburco presented histamine concentrations ≥ 8 mg / L, and for tyramine the 16% of the samples, both Abancay as Tamburco was ≥ 25 mg / L.

For the relationship biogenic amines - physicochemical parameters, was presented a significant relationship ($P < 0.05$) between the % acidity and Histamine content, showing a correlation coefficient $r = 0.502$.

Keywords: biogenic amines, «chicha de jora», histamine, tyramine, HPLC.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La chicha de jora es una bebida tradicional que es consumida en Perú y en otros países sudamericanos desde hace muchos años; en la actualidad, tanto su producción como su consumo han ido disminuyendo, siendo una de las causas el temor del consumidor a que esta bebida pueda contener sustancias tóxicas. Este último hecho, debido a que la chicha de jora es elaborada en forma artesanal mediante fermentación espontánea y, la mayoría de veces, con pobres controles de calidad.

Saade y Calvo (2001), mencionaron que en 1889 se publicaron dos trabajos de investigación relacionados a la calidad de la chicha de maíz elaborada en Colombia. Entre estos trabajos están el “Estudio químico, patológico e higiénico de la chicha” y “La ptomaina de la chicha”, donde se llegó a aislar una amina biógena tóxica semejante a la que se hallaba en los cuerpos en descomposición (putrescina y/o cadaverina).

Las aminas biógenas son sustancias que generan problemas en la salud, si se ingieren en cantidades que superen los límites establecidos como seguros. Entre las aminas biógenas con mayor efecto tóxico derivados de sus propiedades vasoactivas, se encuentra la Histamina y Tiramina (Bardocz *et al.*, 1999). Y, aunque no se han establecido oficialmente los límites permitidos de la concentración de aminas biógenas en bebidas alcohólicas, para el caso del vino se recomienda no superar concentraciones de 8 a 20 mg/L para histamina y 25 a 40 mg/L para la tiramina (Soufleros *et al.*, 1998).

Loret *et al.* (s.f.), en muestras de cervezas de fermentación espontánea, encontraron concentraciones promedios de Histamina (11.99 mg/L) y de Tiramina (28.72 mg/L), que superaron los límites permisibles referentes (8 mg/L para Histamina y 25 mg/L para la Tiramina).

La chicha de jora, al ser una bebida de fermentación espontánea, permite plantear la hipótesis de la presencia de histamina y tiramina en concentraciones que superan los límites permisibles, y que estos valores pueden estar relacionados a las características fisicoquímicas que la bebida presenta.

A pesar de que el consumo de chicha de jora (con deficiente calidad) puede generar un riesgo de intoxicación por aminas biógenas, en Perú, esta bebida milenaria no cuenta con trabajos de investigación sobre la determinación de estas sustancias tóxicas ni la metodología adecuada para su análisis, además se carece de información sobre la relación que hay con sus características fisicoquímicas. Por lo tanto, la evaluación del contenido de aminas biógenas, a través de la identificación y cuantificación por cromatografía líquida (HPLC) en muestras de chicha de jora en los distritos de Abancay y Tamburco y su relación con características fisicoquímicas, contribuirá en la obtención de información relacionada a la presencia de estas sustancias tóxicas en la bebida milenaria y su nivel de toxicidad, además ayudará a tener una base científica para realizar otras investigaciones sobre la incidencia de aminas biógenas en chicha de jora y otras bebidas tradicionales que se elaboran en el Perú.

Otro aporte que generarán los resultados de esta investigación, es que permitirá dar un nuevo enfoque a los estudios realizados en chicha de jora. Entre las nuevas propuestas encontraremos la optimización del proceso de elaboración y desarrollo de controles adecuados para evitar la síntesis de aminas biógenas en la bebida lo que conllevará no sólo a optimizar la calidad nutricional, microbiológica y sensorial del producto, sino también a evitar la presencia de sustancias tóxicas; generando una mayor aceptabilidad general por parte del consumidor.

Para un mejor entendimiento sobre el tema de investigación, la tesis está estructurada por capítulos, tales como: Capítulo II (marco teórico) en el que se tratan temas relacionados a la chicha de jora, aminas biógenas en bebidas fermentadas y métodos utilizados para el análisis de aminas biógenas; en el Capítulo III se detalla la parte experimental de la investigación; en el Capítulo IV se exponen los resultados, incluido el tratamiento estadístico y las discusiones en base a la bibliografía revisada; y por último, en el Capítulo V se plasman las conclusiones y recomendaciones resultantes del trabajo de investigación.

OBJETIVOS

1.1. Objetivo General

- ✓ **Evaluar el contenido de aminas biógenas presente en muestras de chicha de jora elaboradas en la provincia de Abancay de la región Apurímac.**

1.2. Objetivos Específicos

- ✓ **Verificar que el método NCh2637.Of 2001 (método por cromatografía líquida) es adecuado para el análisis de histamina y tiramina en muestras de chicha de jora.**
- ✓ **Evaluar el contenido de histamina y tiramina en muestras de chicha de jora de los distritos de Abancay y Tamburco para comprobar si presentan concentraciones por encima de los límites permitidos (8mg Histamina/L de bebida y 25 mg Tiramina/L de bebida).**
- ✓ **Caracterizar fisicoquímicamente (grado alcohólico, pH, acidez y sólidos totales) las muestras de chicha de jora para determinar la relación entre el contenido de aminas biógenas y las características fisicoquímicas.**

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. CHICHA DE JORA

La Chicha de jora es una bebida elaborada en Perú, difundida en la mayoría del territorio a excepción de la selva. Esta es producida desde la época pre incaico, siendo una bebida sagrada utilizada en actos ceremoniales y fiestas de todas las culturas prehispánicas de la zona central andina (Camino, s.f.; Cavero, 1986 citado por Quillama, 2007). Esta es elaborada artesanalmente y se consume además en otros países de América del Sur, constituyendo un producto de potencial industrialización (De Florio, 1985).

Ciertamente, los usos de la chicha de jora considerada sagrada, han sido de las más variadas: para celebrar victorias guerreras, para inspirar los presagios de los adivinos, homenajear a los antepasados, acompañar trabajos comunales, fiestas costumbristas y finalmente porque tuvieron en el consumo de esta bebida, además de su efecto embriagante, una fuente de alimentación y un elemento fundamental de cohesión, socialización y hospitalidad (Cavero, 1986 citado por Quillama, 2007).

2.1.1. Producción y comercialización de chicha de jora en Perú

Desde la época colonial a los establecimientos donde se ofrecía chicha se les llamaba “chicherías”; posteriormente, ya en el siglo XIX, sin dejar el apelativo de chichería, al incluir el servicio de expendio de comidas con aderezo o acompañamiento de aji, se les fue llamando “picanterías”. Las “chicherías” y “picanterías” han sido muy numerosas en todo el sur peruano -Cusco, Apurímac, parte de Ayacucho, Arequipa, Moquegua-, así como en la

costa central y norteña -Lima, Ancash, La Libertad, Piura, Lambayeque, Cajamarca- (Camino, s.f.).

2.1.2. Fórmulas de elaboración de algunas chichas de jora que se consumen en Perú

La elaboración de chicha de jora es artesanal, tanto que algunos productores la consideran como un arte, situación que explica la reserva demostrada por quienes afirman prefieren no revelar sus particulares métodos de producción (De Florio, 1985). A continuación se describen algunas de las fórmulas utilizadas para su elaboración.

Cuadro 1: Fórmulas de elaboración de algunas variedades de chicha de jora que se consumen en el Perú

PROCEDENCIA (Ciudad de Perú)	DESCRIPCIÓN (Apariencia)	COMPONENTES (Ingredientes)	COCCIÓN (Tiempo)	FERMENTACIÓN (Tiempo)
Chiclayo	Pardo claro Con sedimento (Color)	23 kg de Jora 1 pata de toro 23 kg de Azúcar 76 L. de agua	24 horas	8 días
Jequetepeque	Vino claro Turbia	17 kg de Jora 40 L de agua Chancaca	---	48 horas
Cajabamba	Pardo Claro Turbia	2.5 kg de Jora 7 L de agua 6 kg de chancaca	9-10 horas	a)10-12 horas b)18-20 horas
Cajamarca	Morado Turbia	15 L de agua 3 kg de maíz 2.5 kg de azúcar	a) 1 hora b) 3-4 horas	3 días
Huánuco	Pardo claro con sedimento	10 kg de Jora 2 patas de res 4 kg de cebada 100 L de agua Azúcar	24 horas	1 día

Juliaca	Pardo claro Turbia	1 kg de Jora 7 kg de chancaca 30 L de agua	1 día 6-8 horas	15 días
Usquil (Trujillo)	Pardo claro Turbia	0.25 kg de Jora 7 kg de chancaca 30 L de agua	6-8 horas	15 días
Piura	Pardo claro Turbia	15 L de agua 2 kg de Jora 1 kg de chancaca	24 Horas	3 días

Fuente: Viñas *et al.* (1958), citado por De Florio (1985)

2.1.3. Elaboración de la chicha de jora en Apurímac

En base a entrevistas realizadas a personas que conocen sobre la producción de esta bebida; se obtuvo información de que las provincias de Abancay y Chalhuanca de la Región Apurímac todavía mantienen la tradición en la preparación de la chicha de jora y sigue las etapas descritas en el siguiente cuadro.

Cuadro 2: Etapas seguidas para la elaboración de chicha de jora en Apurímac

ETAPA DE ELABORACIÓN	APURÍMAC	
	Circa – Abancay	Chalhuanca - Aymaraes
Ingredientes	Maíz morocho amarillo, cebada, haba	Maíz morocho rojo
Remojo	De 2 a 3 días	3 días en pozos
Germinación	Tras el escurrido, los granos son cubiertos con ramas de “Chamana” por un periodo de 4 a 5 días (hasta la aparición de plántula). Luego los granos germinados son colocados en un saco, y se le agrega de forma dispersa agua caliente (pudiendo ser una infusión de hojas de “Chamana”) para después frotarlo hasta que la mayor parte de las plántula se desprendan del grano dejándolo en estas condiciones por 3 días más.	Se sacan los granos y se seca el agua del pozo, luego nuevamente se colocan los granos en el pozo y se cubren con “Chamana” y se deja así por 1 semana. Culinado el periodo establecido, se chorrea agua caliente por todo el grano y se cubre nuevamente con “Chamana” aplastado con piedras para lograr un buen tapado. Se dejan los granos en estas condiciones por 3 días más.

Secado	Expuestos al sol por 3 a 4 días	Expuestos al sol por 2 a 3 días
Molienda	Se utiliza el batán o el molinillo de mano hasta obtener un producto lo más diminuto posible.	Se utiliza el batán o el molinillo de mano hasta obtener un producto granulado.
Cocción	3 kg de jora en 25 L de agua. Se hierve por unos minutos. Para mejorar el producto final, este proceso se da en dos etapas: 1) la mitad de la mezcla Jora: Agua es sometida a la etapa de cocción el primer día. 2) la segunda mitad, al día siguiente y esta es añadida a la otra porción que se encuentra en la etapa de fermentación	5 kg de jora en 50 L de agua. Se hierve por unos minutos. En algunas ocasiones se tuesta un puñado de Jora para una arroba de Chicha.
Agente fermentador	Se agrega "Borra" en una porción de 1 vaso por cada 25L de producto. O utilizan ramas del "Tarcaisbo"	Para la fermentación se utilizan levadura de pan, "Borra", y/o azúcar.
Condiciones de fermentación	De 1 a 2 días a temperatura ambiente en tinajas de barro	1 día a temperatura ambiente en tinajas de barro
Condiciones y tiempo de almacenamiento	Se consume hasta el 3er día de iniciada la fermentación	Se consume hasta el 2do día de iniciada la fermentación
Información adicional	Para obtener un sabor más agradable durante el proceso de elaboración de la Chicha de Jora se puede añadir azúcar y canela.	—

Fuente: elaboración propia (entrevista realizada en el 2012)

2.1.4. Elaboración de la chicha de jora en los distritos de Abancay y Tamburco

El proceso seguido para la elaboración de la chicha de jora en los últimos años ha sufrido modificaciones en sus diferentes etapas, sobre todo en el proceso de la chicha de jora que es comercializada en las chicherías. Estos cambios en algunos casos se dieron para optimizar el proceso y en algunos otros para mejorar sus características de aceptabilidad general. En los distritos de Abancay y Tamburco se presentan diferencias en la preparación entre los productores de chicha de jora (Información obtenida en base a encuestas – Anexo 01).

2.1.4.1. Condiciones y el tiempo utilizado para la cocción del mosto de jora

Tabla 1. Cantidad de agua utilizada para 1 arroba (11.5 kg) de jora

10 a 30 L	46%
31 a 70 L	28%
71 a 100 L	21%
mas de 100 L	5%

Fuente: Elaboración propia

Tabla 2. Tiempo empleado para la cocción

Menor a 1 hora	54%
Entre 1 y 3 horas	43%
Entre 4 y 7 horas	3%

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3. Etapas para la cocción del mosto

1 etapa	61%
2 etapas	39%

Fuente: Elaboración propia

2.1.4.2. Condiciones y el tiempo utilizado para la fermentación de la chicha de jora

Tabla 4. Material del recipiente en el que se realiza la fermentación

Recipiente de plástico	39%
Vasijas de barro	57%
Otros	4%

Fuente: Elaboración propia

Tabla 5. Producto y/o agente utilizado para la fermentación del mosto de jora

Chicha madura	97%
Microflora del recipiente	3%

Fuente: Elaboración propia

Tabla 6. Tiempo utilizado para la fermentación hasta que se inicia el consumo y/o venta

Menor a 1 día	89%
Entre 1 y 2 días	7%
Entre 2 y 3 días	4%

Fuente: Elaboración propia

2.1.5. Principio Tecnológico de la fermentación en la elaboración de la chicha de jora

Los principales microorganismos responsables de la fermentación de la chicha son las bacterias del género *Lactobacillus* y levaduras *Saccharomyces cerevisiae*, aunque están presentes otras bacterias, levaduras y hongos (Steinkraus, 1996, citado por Arias, 2008).

El tiempo utilizado para este proceso dependerá del tipo de fermentación utilizada. De manera tradicional, una vez cernido el caldo de la jora a los depósitos de cerámica, conocidos como *urpus* o *magnas*, se da inicio al proceso de fermentación. Por ejemplo en los departamentos de Cusco y Apurímac la chicha de jora de consumo cotidiano tiene un ciclo de vida de tres días. Se inicia con la obtención de la primera bebida llamada *upi aqa* o chicha tierna, cuya vida se prolonga hasta el día siguiente, tiempo en que lentamente disminuye la temperatura del líquido. Una segunda etapa se inicia cuando se agrega un poco de borra o *qoncho* (*chicha madre*, *aqa mama*, fermento que se guarda para madurar una nueva producción de chicha) al *upi aqa* para el proceso de fermentación, hasta alcanzar el estado óptimo, la *chicha madura*, lista para el consumo (Montibeller, s.f.).



Figura 1: ciclo del proceso de fermentación de la chicha

Otra forma de lograr la Fermentación Espontánea de la chicha de jora, se da cuando el upi tibio se vierte a la vasija, urpu o magma, para iniciar el proceso de fermentación natural, el que puede demorar de cuatro a cinco días, según el clima, en este caso actúan como agentes fermentadores las bacterias (Montibeller, s.f.) y levaduras del fermento en constante aumento y madurez (De Florio, 1985) que se quedan impregnadas en los recipientes de cerámica, los que pasan a llamarse *magnas matreras* (Montibeller, s.f.) o cantaros borrachos (De Florio, 1985).

2.1.6. Características fisicoquímicas de chicha de jora

La chicha de jora como se concibe en su forma natural no es una bebida estable ya que se encuentra en pleno proceso fermentativo no controlado, por lo que constantemente están sucediendo alteraciones en las características fisicoquímicas «acidez, grado alcohólico, pH, densidad, etc.» (Canales, 2011). Estos resultados también se verán influenciados por parámetros tales como insumos utilizados y tiempo de almacenamiento hasta el día del análisis, tal como se aprecia en el siguiente cuadro.

Tabla 7: Características fisicoquímicas de la fermentación natural de la chicha de jora

Características fisicoquímicas	Tiempo (horas)				
	0	24	48	72	96
Acidez (% de ácido láctico)	2,7	3,1	3,5	3,7	4,0
pH	4,87	4,6	4,0	3,8	3,8
Alcohol (% en volumen)	---	2	8	9	9

Fuente: De Florio (1985)

Varios estudios revelan que las características fisicoquímicas de la chicha de jora, lista para el consumo, presentan similitudes en diferentes regiones del país. Tal como se muestra en el la tabla 8.

Tabla 8: Resultados de las características fisicoquímicas de muestras de chicha reportados en diversos estudios

Características fisicoquímicas	García-Ventocilla, 2008 [*]		Gonzales, 1987 ^{**}	Manrique, 1979 ^{***}	
	Rango encontrado	Rango de mayor porcentaje	Promedio	Rango encontrado	Rango de mayor porcentaje
°Brix	8,00 a 19,10	8,00 a 11,67 (86,7%)	---	---	---
pH	3,20 a 3,68	3,20 a 3,49 (93,3%)	3,28	3,50 a 5,20	3,50 a 4,50 (72,0%)
Acidez total (g/100 mL ac. sulfúrico)	0,18 a 0,65	0,18 a 0,36 (86,7%)	0,525	0,48 a 17,44	0,48 a 3,84 (79,0%)
Grado alcohólico (g/100 mL)	---	---	6,64	0,80 a 12,0	0,80 a 5,40 (90,7%)
Densidad (g/mL)	---	---	1,0055	---	---

* Trabajo con 15 muestras recolectadas en el Valle del Mantaro – Huancayo.

** Se analizaron 9 muestras de chicha de jora elaborada en Catacaos y Sullana.

*** En este estudio se analizaron 43 muestras de chicha de jora de 48 a 72 horas de fermentación de los principales lugares de elaboración tradicional: Arequipa, Cusco, Piura y Lima. Cabe destacar que en este trabajo, se menciona que las muestras de chicha de jora con valores altos de pH son aquellas que llevan otros insumos como patas de toro, extractos de granos sin germinar, etc., que son de baja acidez.

Siendo la acidez uno de los parámetros más estudiados en este tipo de bebida, cabe resaltar que este parámetro proviene principalmente de los ácidos carboxílicos presentes en su composición, encontrando al ácido acético, el succínico y, en mayor proporción, el láctico (Colagioia y Davidovich, s.f.).

2.1.7. Composición microbiológica de la chicha de jora

La chicha de jora, microbiológicamente, está compuesta por bacterias acidolácticas y levaduras, que son las encargadas de la fermentación de esta bebida (Decheva *et al.*, 2005; Quillama *et al.*, 1996; Cox *et al.*, 1987; De Florio, 1985).

La levadura que se presenta con mayor frecuencia en muestras de chicha de jora es *Saccharomyces cerevisiae* (Quillama *et al.*, 1996). En cambio para el caso de las bacterias lácticas existe diferencia entre un estudio y otro con respecto a la especie presente con mayor frecuencia en esta bebida; pero según los resultados obtenidos del análisis microbiológico de chichas de jora elaboradas artesanalmente en Ecuador se demostró que el organismo predominante fue el *Lactobacillus plantarum*, representando el 75% aproximadamente de la flora ácido láctica total (Cox *et al.*, 1987), resultados que coinciden con los reportados por Quillama *et al.* (1995) al reconocerlo como el microorganismo con mayor frecuencia en muestras de chicha de algunas regiones de Perú.

2.1.8. Chicha de maíz y compuestos tóxicos

Quando esta bebida es elaborada de manera artesanal, se fermentan en cántaros de barro o botijas, lo que causa temor por parte de los consumidores, debido a la posible presencia de una flora microbiana no adecuada, que puede ser consumida junto con la bebida (Vásquez, 2010), ya que esta generalmente no pasa por un proceso de pasteurización (Vásquez, 2010; De Florio, 1985).

El riesgo de intoxicación por chicha, también radica en el pasaje indebido y no deseable de fermentación alcohólica a fermentación acética y de allí a la etapa final de fermentación pútrida. Si el alcohol expuesto indebidamente al aire se oxida, comienzan a obrar los microorganismos que generan ácido acético «fermentación acética», y una vez cesada esta actividad, intervienen las bacterias proteolíticas que degradan las materias albuminoideas y a partir de allí se origina una sustancia nitrogenada altamente tóxica llamada ptomaina «amina biógena tóxica». Esta sustancia es venenosa comparable a la putrescina y otros compuestos nitrogenados que resultan de proteínas en descomposición «fermentación pútrida» y cuya intoxicación generada es conocida como chichismo (Colagioia y Davidovich, s.f.; Saade y Calvo, 2001).

El chichismo, relacionado a la chicha de maíz de Colombia, produce la degeneración de centros nerviosos (Gerardo, 2007), por ello se mencionaba que producía el embrutecimiento de los consumidores de chicha (Colagioia y Davidovich, s.f.; León *et al.*, s.f.). Debido a lo mencionado anteriormente y al confirmar la presencia de ptomaina en 15

muestras de chicha, se prohibió su consumo y comercialización en el año 1948 en Colombia (Gerardo, 2007).

Cabe resaltar que la contaminación de la chicha por aminas biógenas tóxicas, no solo se puede dar en el proceso de fermentación sino también puede formarse en etapas previas como por ejemplo en el remojo del maíz, ya que el gluten de este grano sometido por largo tiempo a un medio húmedo genera la descomposición pútrida (Gerardo, 2007).

2.2. AMINAS BIÓGENAS (AB)

El término 'amina biógena' se usa para definir los productos de la descarboxilación de aminoácidos. Entre estos productos tenemos a la histamina, la serotonina, tiramina, feniletilamina, triptamina, putrescina, cadaverina, agmatina y demás (Bardocz *et al.*, 1999).

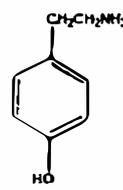
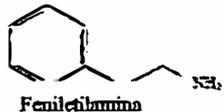
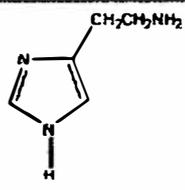
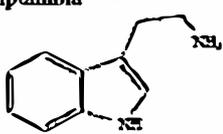
Las aminas biógenas son compuestos orgánicos «bases nitrogenadas» de bajo peso molecular (Landete, 2005; Fernández y Alvares, 2005), y desde el punto de vista biológico, son moléculas con funciones fisiológicas esenciales para los seres vivos; sin embargo, la descarboxilación de algunos aminoácidos, llevada a cabo por determinados microorganismos, puede provocar la presencia de concentraciones altas de AB en los alimentos, de forma que tras su ingestión pasan a la circulación sanguínea desde donde ejercen diversos efectos tóxicos (Fernández y Alvares, 2005). Estos compuestos son encontrados frecuentemente en alimentos fermentados como vino, queso, salchichas, etc. (Landete, 2005).

2.2.1. Importancia del estudio de las aminas biógenas

La importancia del estudio de aminas biógenas en alimentos se da por dos razones: (a) posible riesgo toxicológico de una ingestión de cantidades elevadas de estas sustancias; y (b) la posible relación entre el alto contenido de aminas y el estado higiénico durante el procesado y distribución de los alimentos (Bardocz *et al.*, 1999).

2.2.2. Clasificación de aminas biógenas

Cuadro 3: clasificación de aminas biógenas

Clasificación de aminas biógenas			
Según actividad biológicas de aminas	Según Grupo amino de la molécula	Según su estructura química	Estructura química
Aminas biógenas	Monoaminas	Aromática	 <p>Tiramina</p>
			 <p>Feniletilamina</p>
		Heterocíclica	 <p>Histamina</p>
	Diaminas	Alifáticas	 <p>Triptamina</p>
			 <p>Cadaverina</p>
	Poliaminas naturales	Poliaminas	 <p>Putrescina</p>
 <p>Espemidina</p>			

Fuente: Garai-Ibabe, 2010; Fernández y Alvares, 2005

Las poliaminas y aminas biógenas están presentes en los alimentos, pero tienen efectos diferentes según la actividad biológica que realizan: las poliaminas están implicadas en el crecimiento normal y adaptativo de varios sistemas de órganos mientras las aminas biógenas son principalmente perjudiciales (Bardocz *et al.*, 1999).

2.2.3. Síntesis de aminas Biógenas

Las aminas biógenas pueden formarse por aminación de aldehídos y cetonas o a partir de la rotura de compuestos nitrogenados, aunque la vía de obtención primordial es la descarboxilación de sus aminoácidos precursores (Cuadro 4) liberados de algunos materiales más complejos «proteínas» (Busto, 1996) mediado por diferentes microorganismos -bacteria, hongos, levaduras, etc.- que se presentan en procesos de fermentación o putrefacción (Bardocz *et al.*, 1999).

Cuadro 4: Amina biógena, Aminoácido precursor y enzimas responsables de su síntesis

Amina biógena	Aminoácido precursor	Enzima
Histamina	Histidina	Histidina descarboxilasa
Tiramina	Tirosina	Tirosina descarboxilasa
Putrescina	Ornitidina	Ornitina descarboxilasa
Cadaverina	Lisina	Lisina descarboxilasa
Triptamina	Triptófano	Triptófano descarboxilasa

Fuente: Garai-Ibabe (2010)

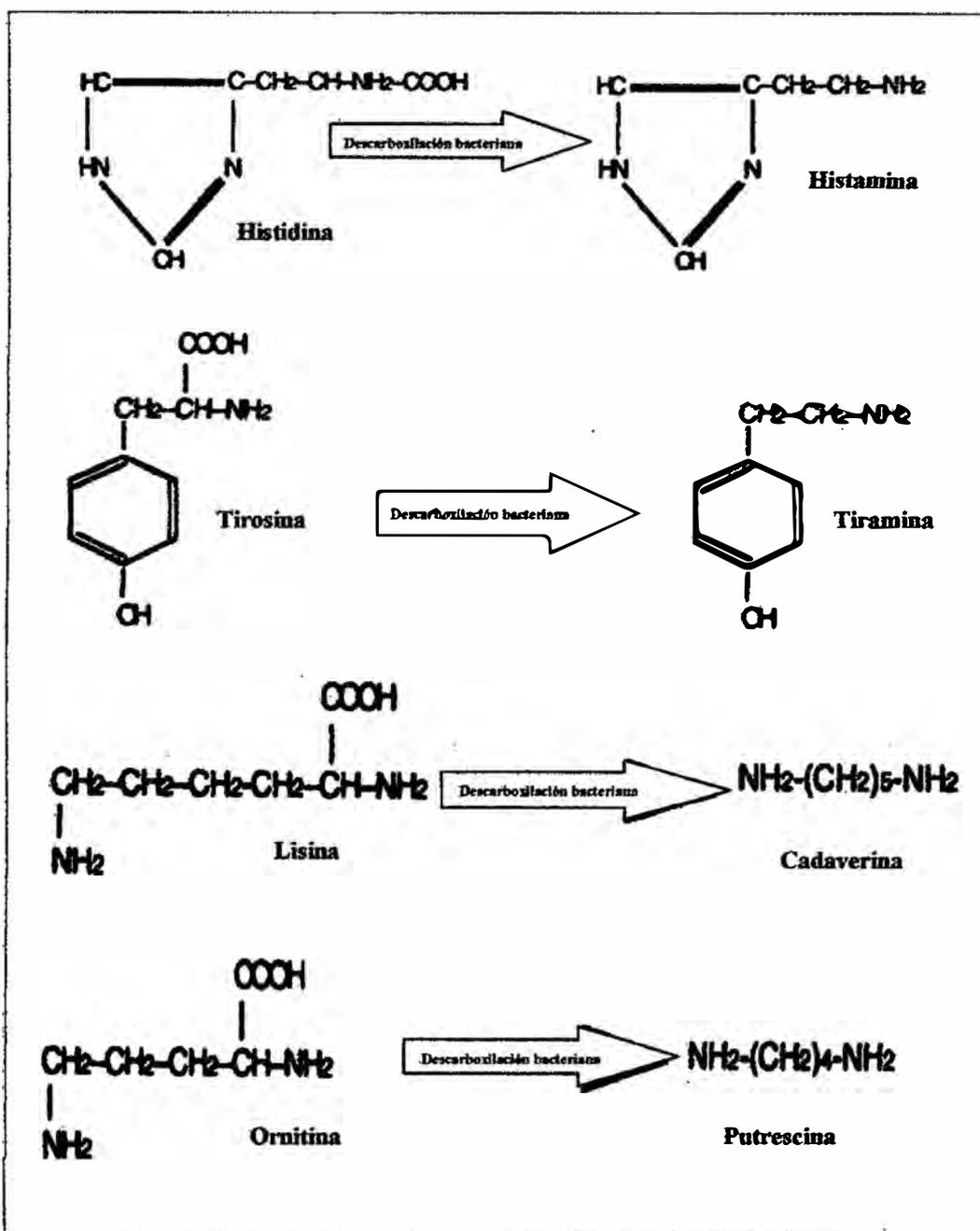


Figura 2: Rutas biológicas de la formación de aminas biógenas por descarboxilación (Galleguillos, s.f.).

2.2.4. Factores que influyen en la formación de aminas biógenas

Para que en los alimentos se produzca acumulación de aminas biógenas es necesario que confluayan varias de las siguientes circunstancias: disponibilidad de los aminoácidos

precursores, presencia de microorganismos con actividad amino-d Descarboxilasa y condiciones favorables, tanto para el crecimiento de la bacteria como para la actuación del enzima Descarboxilasa correspondiente (Bardocz *et al.*, 1999).

2.2.4.1. Aminoácidos precursores y disponibilidad de sustratos

La disponibilidad de aminoácidos libres es uno de los requisitos previos para la síntesis de AB. La proteólisis es un factor crucial, porque se relaciona directamente a la disponibilidad de aminoácidos libres que proporcionan un sustrato para la formación de AB (E.F.S.A., 2011). Además, la lisis de levaduras y acidificación que normalmente acompañan al proceso de fermentación provocan el aumento de la disponibilidad de los aminoácidos precursores libres y favorecen las reacciones de Descarboxilación (Moreno, 2007).

En general, los alimentos asociados a grandes concentraciones de aminas biógenas, son frecuentemente alimentos ricos en proteínas, que además presentan una actividad proteolítica microbial; pero para el caso del vino, si bien éste no es rico en proteínas, si presenta aminoácidos libres (Vidal-Carou *et al.*, 1990, citado por Pérez del Arce, 2010).

2.2.4.2. Microorganismos con actividad Descarboxilasa

Este tipo de microorganismos pueden estar presentes en bebidas fermentadas en las que intervengan bacterias ácido lácticas «vino, sidra, etc.» donde, además de los microorganismos contaminantes, la actividad Descarboxilasa puede estar asociada a las bacterias que forman parte del cultivo iniciador o de la microbiota secundaria. Por lo tanto, se considera muy importante incluir entre los criterios de selección de los cultivos iniciadores, la incapacidad de sintetizar AB (E.F.S.A., 2011; Fernández y Alvares, 2005).

Tabla 9: Especies de bacterias lácticas capaces de sintetizar AB en vino

Especie	Aminas biógenas			
	Histamina	Tiramina	Feniletilamina	Putrescina
<i>L. brevis</i>	-	+(100%)	+(100%)	?
<i>L. buchneri</i>	+(30%)	-	-	+(Menor a 1%)
<i>L. casei</i>	-	-	-	-
<i>L. collinoides</i>	-	-	-	-
<i>L. hilgardii</i>	+(27%)	+(25%)	+(25%)	+(Menor a 1%)
<i>L. mali</i>	+(67%)	-	-	-
<i>L. paracasei</i>	-	-	-	-
<i>L. plantarum</i>	-	+(Menor a 1%)	-	-
<i>L. mesenteroides</i>	+(6%)	-	-	-

* El símbolo + significa que el microorganismo es productor de la amina, el - que no lo es, el ? que la actividad es putativa, todavía no demostrada, y el número que aparece entre paréntesis indica el porcentaje de microorganismos encontrados que son productores de cada AB

Fuente: Polo *et al.* (2008)

2.2.4.3. Condiciones que permiten crecimiento de productores de AB y la actividad de la enzima descarboxilasa

✓ Efecto de la temperatura

La producción cuantitativa de AB normalmente se informa como un valor dependiente de la temperatura y tiempo (Zaman *et al.*, 2009, citado por E.F.S.A., 2011). Generalmente la producción de AB aumenta con la temperatura. Recíprocamente, su acumulación se minimiza a temperaturas bajas a través de la inhibición del crecimiento microbiano y la reducción de actividad de la enzima. La temperatura óptima para la formación de AB por las bacterias mesófilas está entre 20 a 37 °C, mientras la producción de AB se ve disminuida a temperaturas por debajo de 5 °C (E.F.S.A., 2011).

✓ Efecto de pH

De manera general se menciona que un alto pH aumentaría el contenido de aminas biógenas (Gardini *et al.*, 2005, citado por Garai-Ibabe, 2010); ya que el nivel del pH es un factor importante que influye en la actividad de descarboxilación del aminoácido (Silla Santos, 1996, citado por E.F.S.A., 2011), siendo el pH óptimo para la actividad amino descarboxilasa entre 4,0 y 5,5 (Halász *et al.*, 1994, citado por Karovicova *et al.*, 2003). Sin embargo, hay dos mecanismos relacionado al pH que actúan simultáneamente, uno provoca el incremento de la acidez que inhibe el crecimiento de microorganismos (Maijala *et al.*, 1993, citado por E.F.S.A., 2011), y el otro afecta la producción y actividad de la enzima porque en un ambiente de pH bajo, se estimulan las bacterias para producir más enzimas descarboxilasas como parte de su mecanismo de defensa contra la acidez (Molenaar *et al.*, 1993, citado por E.F.S.A., 2011). Estos factores contrarios interfieren entre sí y el resultado neto depende de su equilibrio (E.F.S.A., 2011).

✓ Grado alcohólico

El etanol presente en el vino también influye en la concentración de histamina. Landete (2005) encontró que cuando las concentraciones superaban el 10% v/v de etanol se observaba una disminución en la población microbiana y por tanto en los niveles de histamina. Sin embargo cuando los niveles de etanol eran iguales o inferiores al 10% v/v, encontró que la producción de histamina aumentaba con la concentración alcohólica; concluyendo que la actividad del enzima descarboxilasa se ve favorecida por la presencia de etanol hasta cierto grado alcohólico. Además de manera general, se determinó que a menor grado alcohólico, mayor será el total de aminas biógenas en vinos (Pérez del Arce, 2010).

2.2.5. Efectos fisiológicos adversos de las aminas biógenas

Las aminas biógenas más estudiadas son la Histamina y la Tiramina debido a los efectos tóxicos derivados de sus propiedades vasoactivas «disminuyendo y elevando la presión sanguínea, respectivamente», y causan intoxicación si se ingieren en elevadas cantidades (Bardocz *et al.*, 1999), en el caso de la putrescina y la cadaverina el problema no es sanitario pero sí organoléptico, ya que estas aminas son volátiles y pueden llegar a la mucosa olfativa provocando aromas desagradables (Palacios *et al.*, s.f.); sin embargo, en circunstancias normales el organismo es capaz de desintoxicar las aminas biógenas ingeridas con los alimentos, por medio de las enzimas de la monoaminoxidasa «MAO», diamina oxidasa «DAO, y poliamina oxidasa «PAO»; pero se debe tener en cuenta que estos mecanismos de desintoxicación pueden verse alterados por distintos factores: genéticos, alérgicos, por el consumo de alimentos con elevados niveles de aminas, o por consumo de ciertos medicamentos que puedan actuar como inhibidores de las monoaminoxidasa «MAOS». Otros factores como el consumo de bebidas alcohólicas pueden aumentar también el potencial tóxico de las aminas biógenas, al favorecer el transporte de las aminas biógenas a través de la pared intestinal. El consumo de alimentos ácidos también podrían inhibir las enzimas responsables del metabolismo de la histamina aumentando así su toxicidad. Además se conoce que aminas biógenas como la agmatina, putrescina y cadaverina no son tóxicas "per se", pero pueden limitar la acción de las enzimas aminooxidasa y contribuir a aumentar la toxicidad de histamina y tiramina. Putrescina y cadaverina y las poliaminas espermidina y espermina favorecen la absorción intestinal de las demás aminas potenciando también sus efectos tóxicos (Ruiz-Capillas y Jiménez, 2010).

2.2.5.1. Intoxicación por histamina

La intoxicación se caracteriza por un periodo de incubación que van desde unos pocos minutos a horas, con síntomas que son generalmente perceptible por sólo unas pocas horas. Los síntomas de la intoxicación por histamina se refieren a los efectos sobre los vasos sanguíneos y los músculos lisos, e incluye dolor de cabeza, secreción nasal, broncoespasmo, taquicardia, extrasístoles, hipotensión, edema párpados, urticaria, prurito, enrojecimiento y el asma (Jarisch, 2004; Maintz y Novak, 2007, citados por E.F.S.A., 2011).

Sólo un número limitado de estudios se ha informado sobre las relaciones dosis-respuesta de histamina, los datos principales se originan ya sea a partir de estudios de voluntarios o de casos clínicos, aunque los resultados no siempre son concluyentes (Rauscher-Gabernig et al., 2009, citado por E.F.S.A., 2011). En los ensayos con histamina contenida en bebidas alcohólicas como el vino, no se observaron efectos significativos en voluntarios sanos, mientras que 12 de los 40 pacientes con intolerancia a la histamina demostraron claros síntomas como mareos, dolor de cabeza, náuseas y prurito (Lüthy y Schlatter, 1983; Menne et al, 2001, citados por E.F.S.A., 2011).

2.2.5.2. Intoxicación por tiramina

El efecto de vasoconstricción de la tiramina causa la hipertensión, pero se han descrito otros síntomas como dolor de cabeza, sudoración, vómitos, dilatación de la pupila, migraña, etc. Los signos clínicos aparecen entre 30 minutos a unas pocas horas después del consumo

y por lo general desaparece en pocas horas y la recuperación suele ser completa dentro de las 24 horas. (E.F.S.A., 2011).

Las crisis hipertensivas, y en una minoría de casos la migraña, causada por el consumo de alimentos potencialmente ricos en tiramina se han registrado en las publicaciones científicas y bases de datos sobre la comida e interacciones farmacológicas particularmente con fármacos inhibidores de la monoamino oxidasa (E.F.S.A., 2011).

Existen reportes que indican que el consumo de histamina y tiramina puede generar Esquizofrenia e incluso la tiramina podría llegar a producir Parkinson y depresión (Medida *et al.*, 2003)

2.2.6. Límites permitidos de aminas biógenas en bebidas alcohólicas fermentadas

Aunque no se han establecido oficialmente los límites permitidos de la concentración de *aminas biógenas en bebidas alcohólicas, en el caso del vino algunos países imponen sus propias recomendaciones con respecto a la cantidad máxima de histamina permitida. Entre estos países se encuentran Suiza, 10 mg L⁻¹; Austria, 10 mg L⁻¹; Francia, 8 mg L⁻¹; Bélgica, entre 5 y 6 mg L⁻¹; Finlandia, 5 mg L⁻¹; Holanda, 3 mg L⁻¹; y Alemania, 2 mg L⁻¹ (Lehtonen, 1996, citado por Garai-Ibabe, 2010). El Codex nutricional de la República Eslovaca ha determinado que 20 mg Kg⁻¹ es el límite máximo tolerable para la histamina en cerveza (Karovicova y Kohajdova, 2003).*

De manera general se describe que en vinos concentraciones de 8 a 20 mg/L para histamina y 25 a 40 mg/L para la tiramina pueden causar efectos fisiológicos negativos (Soufleros *et al.*, 1998).

2.2.7. Contenido de Aminas biógenas en bebidas alcohólicas fermentadas

2.2.7.1. Contenido de Aminas biógenas en bebidas industrializadas

La presencia de aminas biógenas en bebidas alcohólicas, como vinos, cervezas o sidras, ha recabado mayor atención, debido a que el etanol incrementa el efecto nocivo de las aminas sobre la salud del consumidor (Garai-Ibabe, 2010). En la tabla 10, se muestran algunos de los resultados obtenidos para el estudio del contenido de aminas biógenas en bebidas alcohólicas fermentadas industrializadas.

Tabla 10: Contenido de aminas biógenas en diferentes bebidas fermentadas

Bebida	Cantidad de muestras analizadas	Aminas Biógenas (mg/L)			Referencia
		Putrescina	Histamina	Tiramina	
Sidra natural	24 muestras	3.56 ± 4.15	1.08 ± 1.92	1.30 ± 1.95	Garai-Ibabe, 2010
Vino tinto	55 muestras	6.05 ± 10.6	4.46 ± 5.70	3.13 ± 4.42	Marcobal <i>et al.</i> , 2006
Cerveza	195 muestras	4.8 ± 2.3	1.2 ± 2.4	6.5 ± 9.0	Izquierdo-Pulido <i>et al.</i> , 1996

2.2.7.2. Contenido de Aminas biógenas en bebidas no industrializadas (fermentación espontánea)

Debido a que la producción de aminas biógenas por levaduras *Saccharomyces* es baja, las bacterias ácido lácticas son los principales microorganismos indígenas responsables de la producción de aminas biógenas en el vino (Renouf y Lucas, s.f.). La mayor parte de las contaminaciones del vino por aminas biógenas tienen lugar durante la fermentación maloláctica natural o espontánea (Moreno, 2007; Renouf y Lucas, s.f.).

Algunas cervezas fermentadas espontáneamente, contienen altas concentraciones de histamina y tiramina, generando un problema para el consumidor; sin embargo, este tipo de fermentación no puede mejorarse, sin obtener cambios dramáticos de los rasgos típicos de la bebida. Este inconveniente podría reducirse después de la determinación del origen de las aminas biógenas, en este caso, determinar qué microorganismos presentes en la fermentación tienen la capacidad de producir aminas biógenas (Bardocz *et al.*, 1999).

En Bélgica se analizaron 4 tipos de cerveza de diferentes cervecerías; cervezas de fermentación espontánea (SF), cervezas de fermentación baja (LF), cervezas de fermentación alta (TF) y cervezas de fermentación baja seguida por una fermentación secundaria dentro del envase (TF+BSF). En las muestras de cervezas SF se encontraron concentraciones promedio de Histamina de 11.99 mg/L y de Tiramina de 28.72 mg/L, además, sin tener en cuenta la concentración final de estas aminas vasoactivas se encontró una relación constante para la mayoría de las cervecerías de Tiramina/Histamina de 1.51, haciendo suponer sobre la presencia de un microorganismo común con capacidad

descarboxilante en cada uno de las cervecerías (Loret *et al.*, s.f.). En trabajos realizados entre el año 1989 a 1999 sobre la determinación de aminas biógenas en muestras de diferentes tipos de cervezas de países europeos, Brasil y Cuba; se encontraron concentraciones de Histamina de entre 0.2 a 21.6 mg/L y de Tiramina de 0.3 a 67.5 mg/L (Kalac y Krizek, 2003).

Por su lado, la presencia de aminas biógenas en sidra natural del País Vasco podría estar relacionado, fundamentalmente, a su falta de estabilización microbiológica después de la fermentación maloláctica, lo que conlleva a, por lo general, que en la sidra se mantengan poblaciones elevadas de bacterias lácticas, en torno a 10⁷ UFC mL⁻¹, entre las que podrían encontrarse cepas con actividad aminoácido descarboxilasa, es decir con capacidad para la síntesis de aminas biógenas (Dueñas *et al.*, 1994; citado por Garai-Ibabe, 2010).

En cuanto a estudios sobre la concentración de aminas biógenas en bebidas fermentadas tradicionales, existen reportes a nivel de Asia y África, mostrando los resultados en la siguiente tabla.

Tabla 11: Contenido de aminas biógenas en bebidas fermentadas tradicionales

Bebida alcohólica fermentada	Principales Ingredientes	Origen	Cantidad de muestras analizadas	Aminas Biógenas (mg/kg o mg/L)							Referencia
				His	Cad	Put	Tir	Trip	Fen	Total	
Boza	Maíz, mijo, trigo y arroz	Turquía	21 muestras	<0.10 a 4.07	<0.30 a 17.69	<0.18 a 9.80	<0.12 a 82.79	<0.12 a 13.78	<0.15 a 4.53	n.d. a 101.14	Cosansu, 2009
"el Agadagidi" y "el pinto"	Plátano	Nigeria	-	0 a 0.5	0 a 0.5	0 a 0.8	0 a 0.6	0 a 0.5	0 a 0.7	0.10 a 2.38	Lasekan <i>et al.</i> , 2000
Chang del Chuen y Mei Kwei	Arroz y sorgo	Taiwán	13 muestras	0 a 4.5	0 a 2.9	0 a 3	0 a 1.4	0.01 a 1.79	0 a 7	0.23 a 11.4	Yen <i>et al.</i> , 1988

2.2.8. Influencia de las etapas del proceso de elaboración de bebidas alcohólicas en la producción de aminas biógenas

Existen numerosos estudios con respecto al origen y factores implicados en la producción de aminas biógenas durante el proceso productivos de bebidas alcohólicas, pero se incluye también que muchas de estas sustancias tóxicas provienen de la materia prima como por ejemplo la cadaverina y putrescina han sido asociadas a las condiciones sanitarias de la uva en la elaboración del vino (Leitão *et al.*, 2005), y en la cerveza se le considera como factor influyente la variedad de cebada utilizada (Buiatti *et al.* 1995, citado por Camacho, 2007).

Durante las operaciones previas a la fermentación, en la cerveza, se incluye como factor influyente en la presencia de aminas biógenas a las condiciones de germinación del grano y procedimientos de secado – tostado de malta (Buiatti *et al.* 1995, citado por Camacho, 2007), reforzando esta afirmación con un estudio en el que se determinó que en el proceso de malteado hay una producción de aminas biógenas considerables (Izquierdo-Pulido *et al.*, 1994). En un estudio de cervezas belgas fermentadas espontáneamente, todas las muestras presentaron cantidades sustanciales de agmatina y putrescina que son llamadas aminas naturales de la cerveza porque están presentes en el producto crudo (la malta) usado para la fermentación. Por otro lado estas bebidas incrementaron su contenido de aminas biógenas durante su elaboración (sobre todo, 0-feniletilamina, triptamina e histamina), y exceden el valor máximo considerado como seguro para el consumidor (Bardocz *et al.*, 1999).

El tiempo y la temperatura de almacenamiento, tanto para la cerveza como para el Makgeolli (vino de arroz coreano), fueron estudiados como factores influyentes en la

síntesis de aminas biógenas. Para la primera bebida, la histamina y tiramina aumentaron durante el almacenamiento, pero luego disminuyeron después de haber alcanzado un nivel máximo a las seis semanas, en cuanto a la tiramina y cadaverina estas aumentaron durante todo el periodo de almacenamiento, además se determinó que a mayor temperatura de almacenamiento la formación de aminas biógenas se incrementa (Ertan *et al.*, 2006). En cuanto a la segunda bebida, solo se determinó putrescina a los 30 días de almacenamiento a 4°C; pero a 20°C se descubrieron varias aminas biógenas y la concentración total de estas aumentó durante el almacenamiento (Young *et al.*, 2011).

Por otro lado, a pesar de que la sidra natural del País Vasco se embotella completamente fermentada, mantiene pequeñas cantidades de fructosa y glicerol como fuentes carbonadas residuales, lo que posibilita el mantenimiento de poblaciones viables de estas bacterias. Además, el reducido pH de la sidra podría ser otro factor que contribuyera a la producción de aminas biógenas, ya que ésta se ha relacionado con los mecanismos de defensa de los microorganismos frente a condiciones ácidas del medio (Arena y Manca de Nadra, 2001).

2.3. MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE AMINAS BIÓGENAS

La importancia de la determinación de aminas biógenas radica en el hecho de investigar eventualidades de un envenenamiento potencial por alimentos (E.F.S.A., 2011), de este modo, las principales aplicaciones del análisis de aminas biógenas son el control de calidad de las materias primas, productos intermedios y finales, control de los procesos de fermentación, control de procesos, investigación y desarrollo (Önal, 2007, citado por Cid, 2011).

Debemos tener en cuenta que existen múltiples métodos para la detección y cuantificación de aminas biógenas y para la identificación de los microorganismos responsables de dicha producción (Polo *et al.*, 2008), destacando los métodos cualitativos, cuantitativos y moleculares (Ruiz-Pérez, 2010). Cada método presenta sus ventajas e inconvenientes, incluyendo precio, rapidez, fiabilidad, dificultad, necesidad de personal entrenado, equipamiento, etc. De ahí se deriva en parte el que existan resultados divergentes entre diferentes laboratorios e investigadores (Polo *et al.*, 2008).

➤ Métodos cromatográficos

Se han informado varios métodos cromatográficos para la determinación de aminas biógenas en alimentos, siendo algunos: capa delgada, electroforesis capilar, gas y cromatografía líquida de alta resolución –HPLC– (E.F.S.A., 2011; Fernández y Alvares, 2005).

El HPLC probablemente es la técnica más común usada para la determinación de aminas biógenas en alimentos. Este método tiene un límite de detección de alrededor de 0.1 mg/kg y presenta una sensibilidad lineal extensa. Esta técnica requiere de equipo especializado y habilidades (E.F.S.A., 2011; Busto, 1996). Debido a la ausencia de cromóforos en las aminas biógenas es necesario formar derivados que absorban en ultravioleta o que sean fluorescentes, con el fin de facilitar su detección. El cloruro de dansilo y el ortoftaldehído (OPA) son los reactivos más utilizados. En el caso del cloruro de dansilo, la reacción se realiza antes de la separación cromatográfica, en el del OPA se puede hacer antes o después (Polo *et al.*, 2008).

2.3.1. Cromatografía Líquida de Alta Resolución - HPLC

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es el tipo de cromatografía por elución *más versátil y ampliamente utilizado*. En esta técnica, la fase móvil es un disolvente líquido que contiene la muestra como mezcla de solutos. La cromatografía líquida tiene aplicaciones en medicina, bioquímica, ciencias ambientales, ciencias de la alimentación, química farmacéutica y toxicología (Skoog *et al.*, 2004).

2.3.1.1. Fases del sistema HPLC

Todas las formas de cromatografía de líquidos son procesos de migración diferencial, donde los componentes de la muestra son selectivamente retenidos por una fase estacionaria y eluidos secuencialmente mediante el cambio de polaridad de la fase móvil. Estas fases están dispuestas de tal manera que mientras una permanece estacionaria dentro del sistema (fase estacionaria), la otra se desplaza a lo largo de él (fase móvil).

La fase móvil está representada por los solventes de grado HPLC, y la fase estacionaria por columnas cromatográficas que se utilizan para el análisis de diferentes muestras variando el material de su empaquetadura y dimensiones.

2.3.1.2. Tipo de cromatografía (Fase Normal y Fase Reversa)

➤ Cromatografía en Fase Normal (NP)

La cromatografía en fase normal se realiza sobre fases estacionarias hidrofílicas como la sílice o alúmina microporosas y con solventes de mediana a baja polaridad como fase móvil. En este tipo de cromatografía, el agua adsorbida en la fase estacionaria, forma capas simples o múltiples alrededor de la partícula, llegando a tapar sus poros, siendo responsable de la pérdida de actividad de la fase estacionaria, o al menos, conduce a mecanismos mixto de retención (Quattrocchi *et al.*, 1992).

Es poco utilizada porque para conseguir resultados reproducibles se debe controlar rigurosamente la humedad de los solventes, siendo conocido su difícil manejo, además la humedad del sistema puede variar durante el transcurso del día por factores ambientales, humedad de recipientes, etc., sin embargo, la selectividad única conseguida en fase normal, sobre todo al utilizar como fase estacionaria la silicagel, hace que se sigan empleándose para problemas insolubles con rellenos hidrófobos (Quattrocchi *et al.*, 1992).

➤ Cromatografía en Fase Reversa (RP)

En este tipo de cromatografía la fase estacionaria es no polar y la fase móvil es muy polar. La fase estacionaria para este tipo de cromatografía consiste en una matriz porosa e insoluble a la que se le han unido químicamente compuestos hidrofóbicos. Las fases móviles de fase reversa están constituidas por mezclas de solventes polares, en general

agua, y un modificador orgánico -metanol, acetonitrilo, THF-, con o sin el agregado de aditivos -sales inorgánicas o reactivos de apareamiento iónico- (Quattrocchi *et al.*, 1992).

2.3.1.3. Instrumentación

➤ Bombas

Las bombas de HPLC impulsan la fase móvil proveniente del reservorio de solvente hacia el inyector, y desde allí hacia la columna (Quattrocchi *et al.*, 1992).

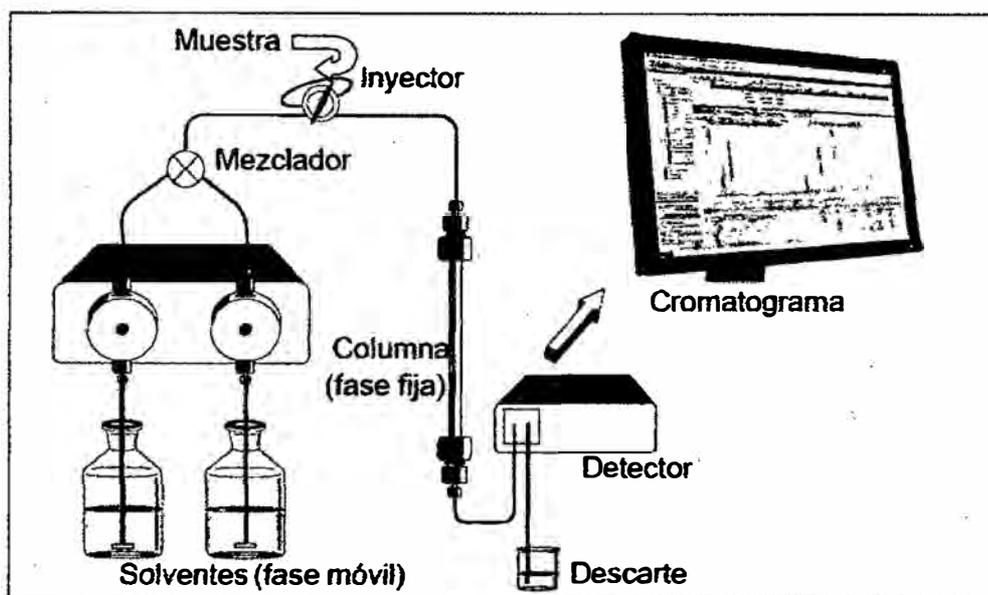


Figura 3: Componentes del equipo HPLC

Una separación que utiliza un disolvente de composición constante se denomina elución isocrática. Con frecuencia, la eficacia de la separación se aumenta notablemente por una elución con gradiente. En este caso se utilizan dos o tres sistemas disolventes con una polaridad significativamente distinta. Una vez que comienza la elución, se varía la relación

de los disolventes de forma programada, a veces continuamente y a veces mediante una serie de etapas escalonadas. Los instrumentos en la moderna HPLC a menudo están equipados con unos dispositivos que permiten introducir los disolventes desde dos o más recipientes en una cámara de mezcla a una velocidad que varía continuamente y la relación de volumen de los disolventes se puede modificar lineal o exponencialmente con el tiempo (Skoog, 2004; Busto, 1996; Quattrocchi *et al.*, 1992).

➤ **Inyectores**

El inyector es el dispositivo que permite introducir la muestra en solución sin interrumpir el caudal de solvente a través del sistema (Quattrocchi *et al.*, 1992).

➤ **Detectores**

Uno de los últimos adelantos en detectores UV es el denominado de ordenamiento de fotodiodos. En los dispositivos “convencionales”, la red de difracción se ubica antes de la celda, la que recibe luz monocromática seleccionada por la red. En los detectores de ordenamiento de fotodiodos se emplea un sistema óptico invertido (Quattrocchi *et al.*, 1992).

2.3.1.4. Cálculo de concentración del analito

➤ Estándar interno

El método del estándar interno consiste en agregar cantidades exactamente medidas de una sustancia así denominada, tanto a la muestra como a un estándar que contiene el analito, preparado con la misma concentración que la muestra (Quattrocchi *et al.*, 1992).

➤ Estándar externo

El estándar externo es, sin lugar a dudas, el método de cuantificación más utilizado en HPLC. Consiste en la preparación de estándares de concentración semejante al analito en la muestra, y el ensayo cromatográfico de ambas, muestra y estándar, debe realizarse en las mismas condiciones operativas (Quattrocchi *et al.*, 1992).

➤ Estándar agregado

El método del estándar agregado consiste en inyectar dos muestras para realizar un análisis, una de ellas es la muestra tal cual y la otra es la muestra a la que se le agrega una cantidad conocida de estándar de referencia. Esta segunda muestra se utiliza como estándar (Quattrocchi *et al.*, 1992).

2.3.1.5. Parámetros preliminares para la ejecución del método de ensayo

Para la aplicación de la cromatografía líquida como método de ensayo para la determinación de aminas biógenas o de cualquier otro analito, se debe hacer el estudio de

diferentes parámetros que nos permitirán dar la veracidad de los resultados obtenidos por el equipo. Entre estos parámetros tenemos: límite de detección, límite de cuantificación, linealidad, rango de trabajo y efecto matriz (Quattrocchi *et al.*, 1992).

➤ **Límite de detección**

Mínima cantidad de analito que puede ser detectado por el instrumento, aunque no necesariamente cuantificado con precisión y exactitud (A.E.F.I, 2001).

➤ **Límite de cuantificación**

Mínima cantidad de analito que puede determinarse cuantitativamente con una adecuada exactitud y precisión (A.E.F.I, 2001).

➤ **Linealidad y rango de trabajo**

Capacidad del método para proporcionar resultados que son directamente (o por medio de transformaciones matemáticas) proporcionales a la concentración del analito en la muestra dentro de un rango establecido (A.E.F.I, 2001).

➤ **Efecto matriz (% de recuperación)**

Es la influencia del tipo de muestra utilizada en un determinado ensayo frente a los porcentajes de recuperación de un estándar de concentración conocida añadida a la muestra. Esto debido a interferencias derivadas de la matriz de la muestra en cuestión.

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1.1. Población

La población se definió por el número total de muestras de chicha de jora elaboradas de forma tradicional y comercializada (en establecimientos conocidos como chicherías) en los distritos de Abancay y Tamburco, en la Región Apurímac. Delimitando el área de estudio en el Anexo 04.

3.1.2. Método y diseño de investigación

La ejecución de la investigación se dividió en 4 etapas, tal como se describe a continuación

3.1.2.1. Exploración del número total de productores de chicha de jora

➤ Sondeo del número de chicherías

La exploración de los establecimientos de venta de chicha de jora se realizó en los meses de *Marzo a Abril del 2015*. Se hicieron consultas sobre los lugares donde se vendía esta bebida. Con la información obtenida se llenó el formato del Anexo 02, que fue utilizado como un registro inicial de direcciones. Este registro sirvió para visitar a las chicherías. Durante la visita a los establecimientos registrados también se encontraron más chicherías, y fueron incluidas en el registro inicial.

3.1.2.2. Implementación del método de ensayo

Previo a la ejecución de los ensayos, se realizó la implementación del método de análisis de aminas biógenas en chicha de jora, determinando los siguientes parámetros:

✓ **Límite de detección y cuantificación:**

Para el desarrollo de este parámetro, se analizaron por triplicado, tres concentraciones diferentes para cada amina biógena: 2.5 mg/L, 5 mg/L y 7.5 mg/L para histamina y 1 mg/L, 2 mg/L y 3 mg/L para tiramina.

El cálculo del límite de detección y cuantificación se realizó utilizando la pendiente de la recta de calibración, el área promedio y la desviación estándar atribuible a la respuesta del blanco; estos dos últimos, fueron calculados por extrapolación a concentración cero en las ecuaciones obtenidas. Para la respuesta del blanco, la intersección con el eje "Y" (ecuación concentración vs área) corresponde teóricamente al valor de respuesta a concentración cero del analito; sucediendo lo mismo para la desviación estándar atribuible al blanco sustituyendo una concentración cero (ecuación concentración vs desviación estándar).

La fórmula utilizada para el cálculo de los límites fue la siguiente:

$$LD = \frac{Y_{BL} + k \times S_{BL}}{b}$$

Donde;

LD: límite de detección o límite de cuantificación

Y_{BL} : Área por extrapolación a cero

S_{BL} : Desviación estándar por extrapolación a cero

b: pendiente de la ecuación de linealidad

k: factor de cálculo:

- $k = 3$, límite de detección.
- $k = 10$, límite de cuantificación.

✓ Linealidad y rango de trabajo

Para verificar la linealidad y rango de trabajo del método de análisis de aminas biógenas, se analizaron 6 concentraciones diferentes para cada amina biógena: 2 mg/L, 4 mg/L, 8 mg/L, 16 mg/L, 32 mg/L y 40 mg/L para tiramina y 0.5 mg/L, 1 mg/L, 2 mg/L, 4 mg/L, 8 mg/L y 10 mg/L para histamina. Se graficaron curvas de calibración (concentración vs área) verificando que el valor del coeficiente de correlación sea mayor o igual a 0.997

✓ Efecto matriz (% de recuperación)

El efecto matriz, para el método en estudio, fue evaluado mediante la adición a las muestras de una concentración conocida de solución estándar de las aminas biógenas. Se calculó el % de recuperación de la concentración teórica aplicando la siguiente fórmula:

$$\%Rec. = \frac{Conc. Experimental}{Conc. Teórica} \times 100$$

Donde;

%Rec.: Porcentaje de recuperación

Conc.: Concentración

3.1.2.3. Recolección de muestras

El presente trabajo de investigación no contó con un muestreo, en vista que en el transcurso de la investigación se determinó que el número total de chicherías era variable, siendo una de las razones la expuesta en el Diario Chaski (Anexo 03), que indicó que varias chicherías fueron cerradas a fines de mes de abril por la municipalidad Provincial de Abancay debido a ciertas irregularidades. Además, muchas otras cerraron por el temor a una visita por las autoridades y otras abrieron debido a la necesidad de comercializar sus productos (Pobladores de Abancay, 2015).

En base a lo expuesto, se decidió recolectar las muestras de todas las chicherías encontradas al hacer un recorrido por los distritos de Abancay y Tamburco. Las muestras de chicha de jora consideradas en el estudio fueron recolectadas durante los meses de junio y julio del 2015. Éstas fueron transportadas a la ciudad de Lima en Coolers (a -18°C por 24 horas) luego éstas fueron acondicionados y almacenadas a temperatura de congelación en las instalaciones del laboratorio de fisicoquímica e Instrumental de la empresa ALS Corplab S.A.C.

3.1.2.4. Ejecución de los ensayos

Esta investigación se desarrolló durante el mes de julio y agosto en los laboratorios de Fisicoquímica e Instrumental de la empresa ALS Corplab S.A.C. Entre los ensayos ejecutados para las muestras de chicha de jora están los siguientes:

- ✓ Histamina
- ✓ Tiramina

- ✓ %Acidez
- ✓ pH
- ✓ grado alcohólico
- ✓ solidos totales

3.1.3. Equipos, materiales y reactivos

En el cuadro 5 se detallan los equipos, materiales y reactivos utilizados para la ejecución de los ensayos antes mencionados.

Cuadro 5: Descripción de equipos, materiales y reactivos

EQUIPOS	
Descripción	Marca
Equipo HPLC (1100 Serie)	Agilent Technology
Agitador Shaker	IKA
Centrifuga	MPW
Bomba de vacío	GAST
Baño termostático	Mettler
Balanza analítica (cap. 210g)	Sartorius
Equipo de destilación (Kjeldahl)	SHIAR
Estufa	Mettler
pH-metro	HANNA
MATERIALES	
Descripción	Marca
Matraz Erlenmeyer (25 mL)	Variado
Tubos de ensayo con tapa rosca (10 mL)	Variado
Columna cromatográfica RP 18e (125mm*4mm*5µm)	Merck
Filtros de jeringa (PVDF 4,5µm de poro)	Variado
Jeringas (5 mL)	Variado
Viales cromatográficos ámbar de 2 ml	Agilent
Fioles de 100 mL	Variado

Termómetro Digital	Variado
Bureta de 10 mL	Variado
Micropipetas	Variado
Material usual de laboratorio	Variado
REACTIVOS	
Descripción	Marca
Diclorhidrato Histamina	Sigma Aldrich
Clorhidrato de Tiramina	Sigma Aldrich
Metanol grado HPLC	Merck
Acetonitrilo grado HPLC	Merck
Agua Ultrapura	Merck
Acido tricloroacetico p.a,	Merck
Bicarbonato de sodio p.a.	Merck
Cloruro de dansilo p.a.	Sigma Aldrich
Acetona grado HPLC	Merck
Arena	Merck
Hidróxido de sodio	Merck
Fenolftaleína	Merck

3.1.4. Ensayos y metodología utilizada

Previo a la ejecución de los ensayos, las muestras fueron preparadas utilizando el método *AOAC Official Method 920.49 Beer – Preparation of Sample*. Las muestras preparadas fueron analizadas según las metodologías descritas a continuación:

➤ Aminas biógenas - histamina y tiramina

(NCh 2637. Of 2001: Productos hidrobiológicos – Determinación de histamina y otras aminas biógenas – Método HPLC con detector UV)

Para la determinación de aminas biógenas en las muestras de chicha de jora se siguió la metodología descrita en el flujograma de la Figura 4.

- ✓ Se pesó 5 g de muestra en matraces de 50 mL y se le agregó 10 mL de la solución de ácido tricloroacético al 5%.
- ✓ Se agitó en el Shaker por 30 minutos, se trasvasó el sobrenadante a tubos y se centrifugó por 15 minutos a 3000rpm.
- ✓ Se filtró y re-filtró el sobrenadante con papel Whatman #4 y filtros de membrana de 0.45µm respectivamente.
- ✓ Se prepararon las soluciones estándar de tiramina e histamina de 1000 mg/L cada una en solución de ácido tricloroacético al 5%. De estas soluciones madre se prepararon soluciones de trabajo de 2, 4, 8, 16, 32 y 40mg/L para tiramina y 0.5, 1, 2, 4, 8 y 10 mg/L para histamina.
- ✓ Los extractos de muestras, conjuntamente con las soluciones estándar fueron derivatizadas con cloruro de dansilo, añadiendo secuencialmente lo siguiente:
 - 100 µL de extracto de muestra o solución estándar
 - 400 µL de solución de bicarbonato de sodio 0.25M
 - 200 µL de solución de cloruro de dansilo 10mg/mL.
 - 300 µL de solución de bicarbonato de sodio 0.25M
- ✓ Los derivatizados se incubaron a 60°C por 1 hora en un baño maría. Se enfriaron a temperatura ambiente.
- ✓ Para la inyección de las muestras al equipo HPLC, se utilizaron las siguientes condiciones cromatográficas:
 - *Fase Móvil:* Metanol- Agua (80:20)
 - *Bomba:* Isocrática
 - *Flujo:* 1 ml/min
 - *Volumen de inyección:* 20µl

- *Detección:* 254nm
- *Temperatura:* 30°C
- *Columna:* RP- C18, 125-4, (5µm)

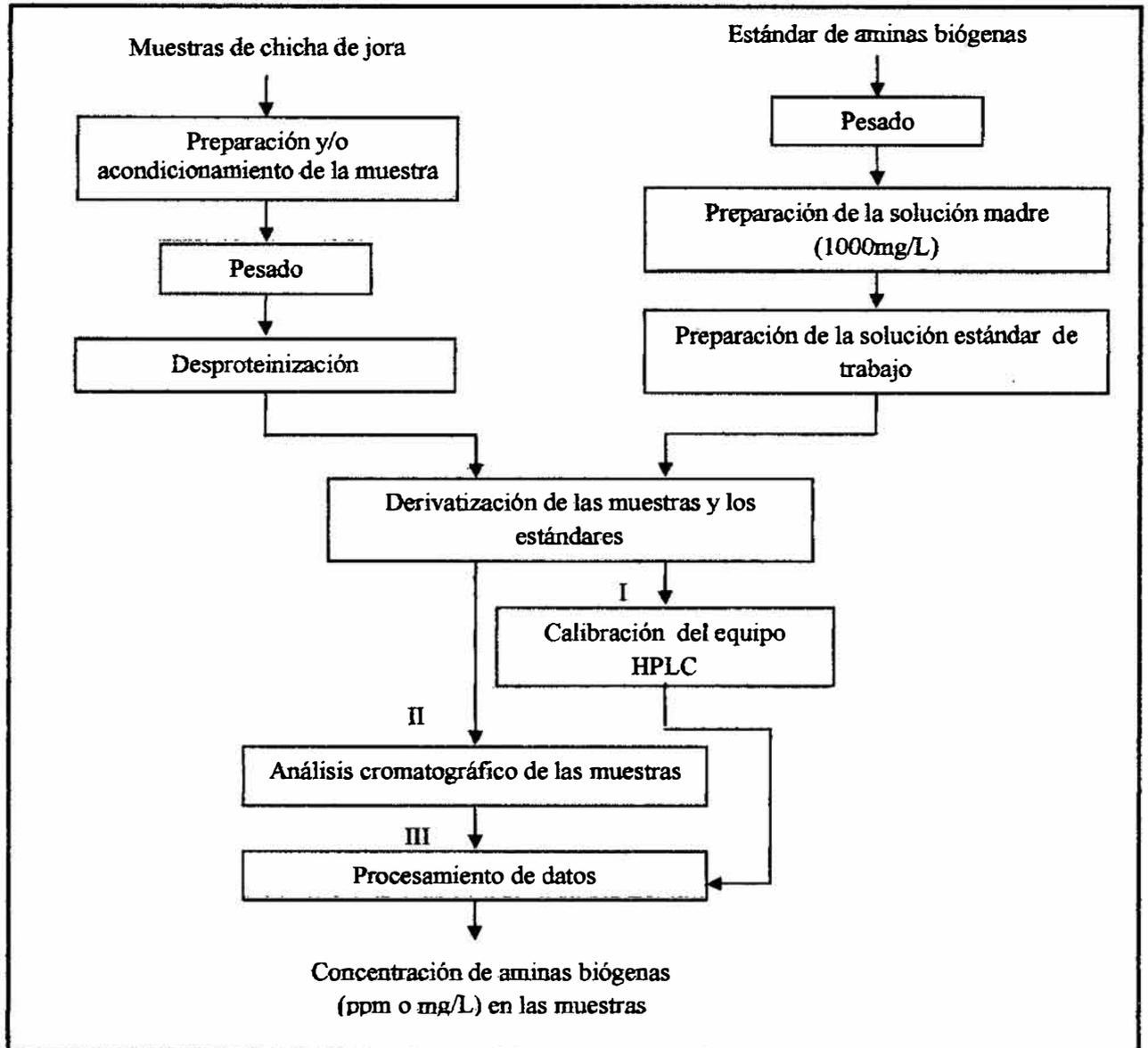


Figura 4: proceso seguido para la determinación de aminas biógenas

➤ **Grado alcohólico**

(AOAC Official Method 935.21: Alcohol (by volume) in Beer)

- ✓ Se pesó una fiola de 100 mL limpia y seca. Luego se agregó agua desionizada hasta el aforo y se reguló la temperatura a 20°C utilizando baños de agua fría. Este recipiente con agua también fue pesado.
- ✓ Se descartó el agua de la fiola y se enjuagó con alcohol. Este fue colocado en la estufa hasta sequedad.
- ✓ A la fiola seca, se le agregó la muestra de chicha de jora unos mililitros antes del aforo, se reguló la temperatura a 20°C utilizando baños de agua fría, se aforó con la misma muestra y se pesó.
- ✓ Las muestras contenidas en las fiolas, fueron colocadas en los balones kjeldahl. Estas fiolas fueron enjuagadas con 30 mL de agua y los restos fueron recibidos en el mismo balón.
- ✓ Los balones se colocaron inmediatamente al sistema de destilación del equipo kjeldahl. Los destilados fueron recibidos en la misma fiola que contenía inicialmente la muestra, estas fiolas estaban sumergidas en un baño de agua fría que permitía mantener la temperatura a alrededor de 20°C. Se destiló un poco menos de 100 mL, se aforó con agua desionizada a 20°C y se pesó.

➤ **pH**

(AOAC Official Method 945.10: pH of Beer)

- ✓ En un beaker de 100 mL se colocaron 50 mL de las muestras preparadas de chicha de jora.

- ✓ Al vaso se introdujo el sensor de pH y temperatura (previamente calibrado con Buffer de pH 4 y 7) y se realizaron las lecturas.
- ✓ Se registraron los valores de pH corregido a temperaturas de 25°C.

➤ **%Acidez**

(AOAC Official Method 950.07: Acidity (Total) of Beer)

- ✓ En un matraz Erlenmeyer de 250 mL se colocaron 50 mL de las muestras preparadas.
- ✓ Estas muestras fueron tituladas con solución de hidróxido de sodio 0.1N (la solución fue estandarizada con biftalato de potasio).
- ✓ El punto final fue evaluado con el valor de pH, siendo aceptable de 8.1 a 8.3.
- ✓ Los gastos de la solución de hidróxido fueron registrados.

➤ **Sólidos totales**

(NOM-116-SSA1-1994: Bienes y servicios. Determinación de humedad en alimentos por tratamiento térmico. Método por arena o gasa)

- ✓ En una placa vacía se pesaron alrededor de 4g de arena purificada y se colocó en la estufa a 100°C por 2 horas. Al finalizar se pesa la placa acondicionada.
- ✓ En la placa acondicionada se pesaron entre 2 y 6 g de muestra de chicha de jora previamente preparada. Se mezcló bien con la arena y se llevó al baño maría a 90°C hasta sequedad.
- ✓ Las muestras del baño maría se llevaron a la estufa por 4 horas a 100°C.
- ✓ Se registraron los pesos obtenidos.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

En el presente capítulo se muestran los resultados obtenidos para la implementación del método por HPLC, la concentración de aminas biógenas en muestras de chicha de jora y su relación con características fisicoquímicas. Cada una de estas acompañadas con las discusiones en comparación con la bibliografía revisada.

Además se presenta el contraste de las hipótesis planteadas, mediante tratamiento estadístico de los resultados, utilizando MINITAB como software estadístico.

4.1. IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO PARA DETERMINACIÓN DE AMINAS BIOGENAS EN MUESTRAS DE CHICHA DE JORA POR HPLC

Previo a la ejecución de los ensayos, se realizó la implementación del método de análisis de *aminas biógenas en chicha de jora, estudiando los siguientes parámetros:*

- ✓ Límite de detección y cuantificación
- ✓ Linealidad y rango de trabajo
- ✓ Efecto matriz (% de recuperación)

4.1.1. Límite de detección y cuantificación

El límite de detección y el límite de cuantificación calculados reflejan la sensibilidad del método analítico en estudio. Para el cálculo se utilizó la siguiente fórmula:

$$LD = \frac{Y_{BL} + k \times S_{BL}}{b}$$

Donde;

LD: límite de detección o límite de cuantificación

Y_{BL} : Área por extrapolación a cero

S_{BL} : Desviación estándar por extrapolación a cero

b: pendiente de la ecuación de linealidad

k: factor de cálculo:

- k = 3, límite de detección
- k = 10, límite de cuantificación.)



Tabla 12. Límite de detección y cuantificación para cada amina biógena

	Conc. (mg/L)	Área prom.	Desv. Estándar	Ecuación (Conc. Vs Área)	Área (extrapolación a conc. cero)	Ecuación (Conc. Vs Desv. Std)	Desv. Std. (extrapolación a conc. cero)	Ecuación (linealidad)	Límite de detección	Límite de cuantificación
HISTAMINA	2.5	51.43	0.78							
	5	89.05	0.11	$Y=16.519x+8.908$	8.908	$Y=0.179x-0.0434$	0.0434	$y = 17.954x + 7.893$	1.51 mg/L	1.56 mg/L
	7.5	134.03	1.67							
TIRAMINA	1	11.89	0.11							
	2	23.50	0.64	$Y=11.996x-0.237$	0.000	$Y=0.840x-0.837$	0.837	$y = 12.582x - 6.394$	0.60 mg/L	2.00 mg/L
	3	35.88	1.79							

La A.E.F.I. (2001), indica que la concentración esperada de la muestra debe estar incluida dentro del rango de trabajo de método y que este debe iniciar desde el límite de cuantificación del analito en estudio. En el presente trabajo de investigación los valores esperados están alrededor de 8 mg/L para histamina y 25 mg/L para tiramina, por lo tanto los valores obtenidos para los límites de cuantificación demuestran una adecuada sensibilidad del método para analizar las muestras de chicha de jora.



4.1.2. Linealidad y rango de trabajo

Tras graficar las curvas de calibración (concentración vs área) de los estándares de histamina y tiramina, se obtuvieron los siguientes resultados:

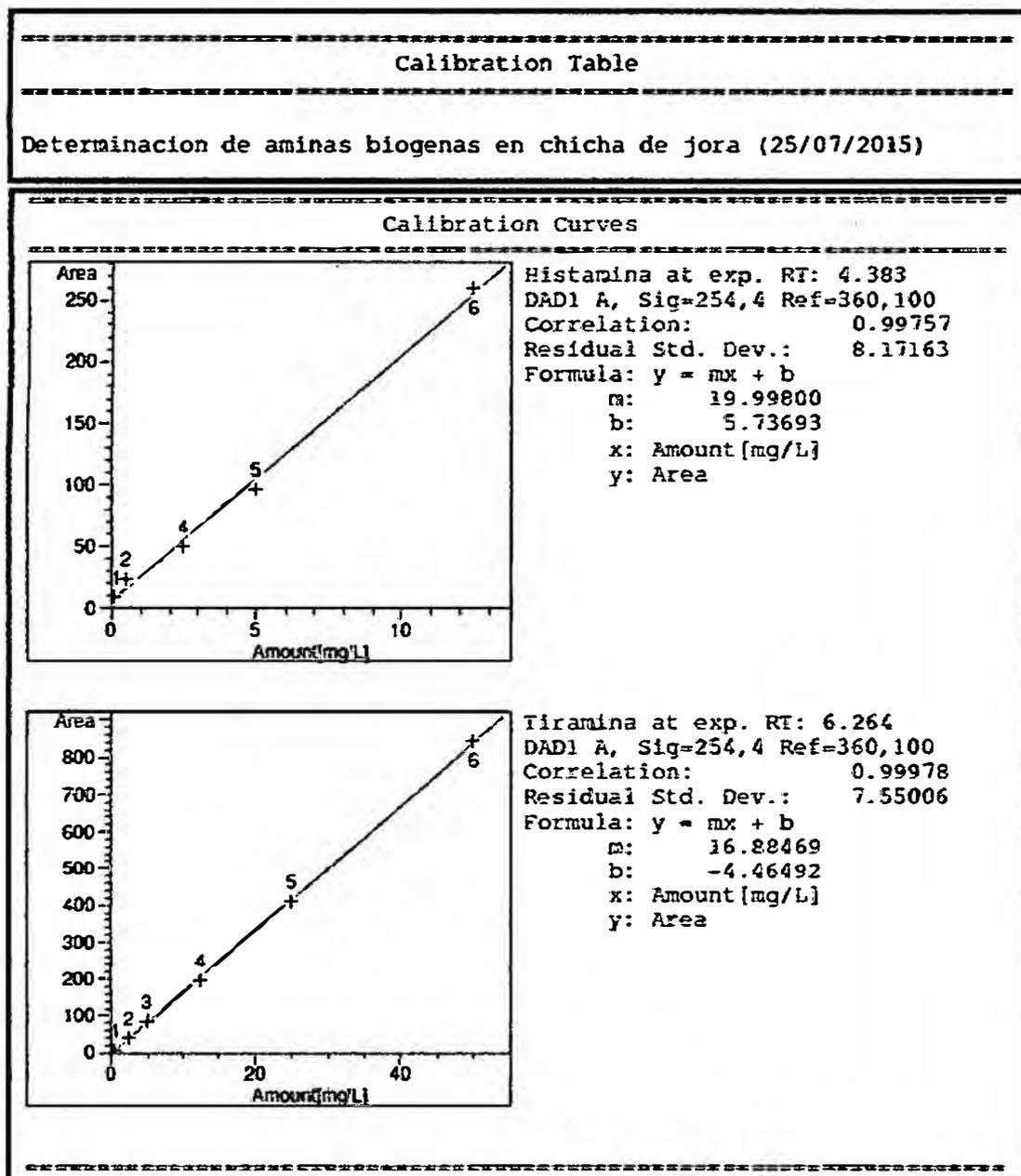


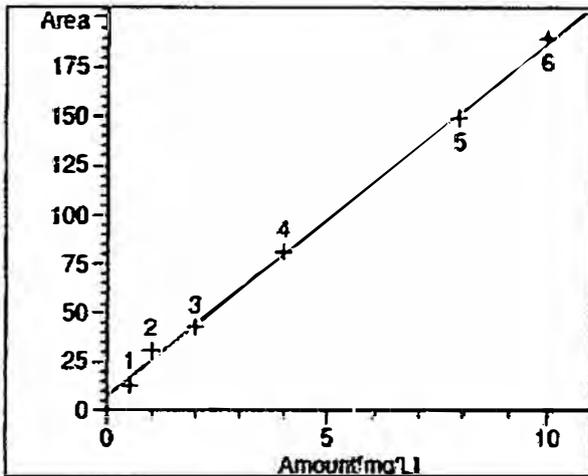
Figura 5. Curva de calibración de los estándares de Histamina y Tiramina (25/07/2015)

PARÁMETRO	HISTAMINA	TIRAMINA
Coefficiente de correlación	0.99757	0.99978
Ecuación	$Y = 19.99800X + 5.73693$	$Y = 16.88469X - 4.46492$
Rango de trabajo	1.56 mg/L a 62.50 mg/L	2.00 mg/L a 250 mg/L

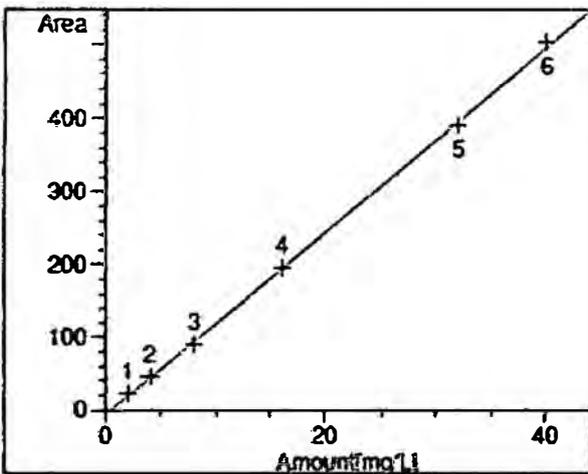
Calibration Table

Determinación de aminas biogénicas en chicha de jora (26/07/2015)

Calibration Curves



Histamina at exp. RT: 4.358
 DAD1 A, Sig=254,4 Ref=360,100
 Correlation: 0.99896
 Residual Std. Dev.: 3.58420
 Formula: $y = mx + b$
 m: 17.95402
 b: 7.89274
 x: Amount [mg/L]
 y: Area



Tiramina at exp. RT: 6.227
 DAD1 A, Sig=254,4 Ref=360,100
 Correlation: 0.99971
 Residual Std. Dev.: 5.35881
 Formula: $y = mx + b$
 m: 12.58224
 b: -6.39431
 x: Amount [mg/L]
 y: Area

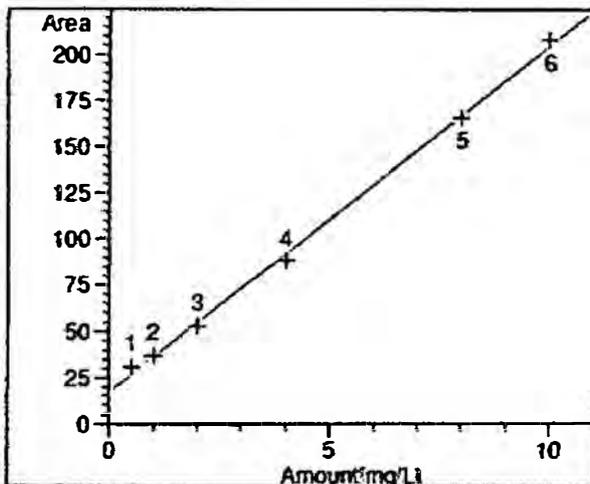
Figura 6. Curva de calibración de los estándares de Histamina y Tiramina (26/07/2015)

PARAMETRO	HISTAMINA	TIRAMINA
Coefficiente de correlación	0.99896	0.99971
Ecuación	$Y = 17.95402 + 7.89274X$	$Y = 12.58224X - 6.39431$
Rango de trabajo	1.56 mg/L a 50 mg/L	2.00 mg/L a 200 mg/L

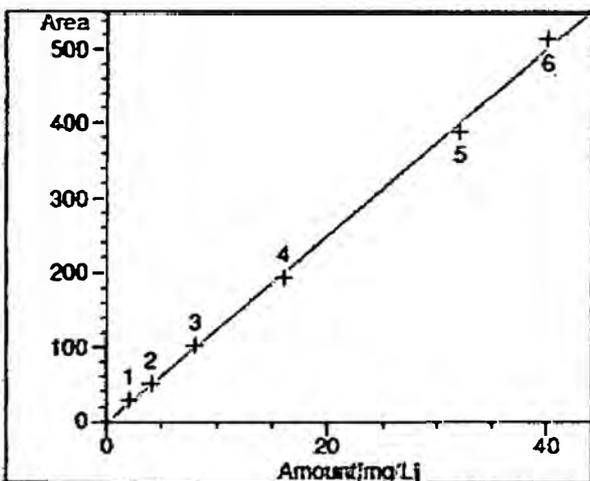
Calibration Table

Determinacion de aminas biogenas en chicha de jora (27/07/2015)

Calibration Curves



histamina at exp. RT: 4.346
 DAD1 A, Sig=254,4 Ref=360,100
 Correlation: 0.99913
 Residual Std. Dev.: 3.43138
 Formula: $y = mx + b$
 m: 18.71598
 b: 17.87476
 x: Amount [mg/L]
 y: Area



tiramina at exp. RT: 6.203
 DAD1 A, Sig=254,4 Ref=360,100
 Correlation: 0.99915
 Residual Std. Dev.: 9.07486
 Formula: $y = mx + b$
 m: 12.56683
 b: -5.18361e-1
 x: Amount [mg/L]
 y: Area

Figura 7. Curva de calibración de los estándares de Histamina y Tiramina (27/07/2015)

PARAMETRO	HISTAMINA	TIRAMINA
Coefficiente de correlación	0.99913	0.99915
Ecuación	$Y = 18.71598X + 17.87476$	$Y = 12.56683X - 0.518361$
Rango de trabajo	1.56 mg/L a 50 mg/L	2.00 mg/L a 200 mg/L

Según la N.A.C.E.C (2009), un ensayo instrumental presenta una adecuada linealidad cuando reporta valores del coeficiente de correlación ≥ 0.997 . Como se puede observar, todos los coeficientes de correlación, son mayores a 0.997, tanto para histamina como para tiramina, para un rango de trabajo de 1.56 mg/L a 50 mg/L y 2 mg/L a 200 mg/L respectivamente; demostrando que dentro del rango de trabajo existe un relación lineal entre la respuesta del equipo y la concentración de las aminas biógenas en estudio.

4.1.3. Efecto matriz (% recuperación)

En la evaluación del efecto matriz, estudiado mediante el %recuperación de la amina biógena adicionada a las muestras de chicha de jora, se obtuvieron valores promedio de 98.06% y 99.21% para la Histamina y la Tiramina respectivamente (Tabla 13). Estos resultados están acorde a lo solicitado en la Norma chilena NCh2637.Of 2001, donde se indica que para asegurar la calidad de los resultados la recuperación debería ser superior a 90%.

Tabla 13. %Recuperación de aminas biógenas adicionadas

Nº	HISTAMINA	TIRAMINA
1	105.39 %	94.52 %
2	104.44 %	97.33 %
3	96.61 %	108.26 %
4	92.67 %	97.03 %
5	95.82 %	104.77 %
6	93.42 %	93.33 %
Promedio	98.06 %	99.21 %

Adicionalmente a la evaluación del %recuperación de las aminas biógenas; a los resultados obtenidos, se les evaluó el grado de precisión utilizando el criterio de Hortwitz, quien indica que los datos son precisos si:

$$\%RSD_{(datos)} \leq RSD_{(HORWITZ)}$$

Calculando el $RSD_{(HORWITZ)}$ de la siguiente manera:

$$RSD_{(HORWITZ)} = 2^{(1-0.5 \log C)}$$

Donde;

C: es la concentración

Todos los datos obtenidos cumplieron con los criterios de aceptación del $RSD_{(HORWITZ)}$, comprobando la precisión de los mismos.

4.2. CONTENIDO DE AMINAS BIÓGENAS EN ABANCAY Y TAMBURCO

4.2.1. Recolección de muestras.

Se recolectaron todas las muestras de chicha de jora que se hallaron al hacer el recorrido por los distritos de Abancay y Tamburco durante el periodo junio – julio del 2015. Encontrando en total 82 chicherías; 57 en Abancay y 25 en Tamburco, distribuidas tal como se muestra en el mapa del Anexo 05.

4.2.2. Resultados para el análisis de aminas biógenas

Todas las muestras de chicha de jora recolectadas fueron analizadas. Los datos obtenidos se muestran en Anexo 07 y los resultados se muestran gráficamente a continuación:

Figura 8. Representación gráfica del contenido de Histamina y Tiramina en las muestras de Chicha de Jora del distrito de Abancay

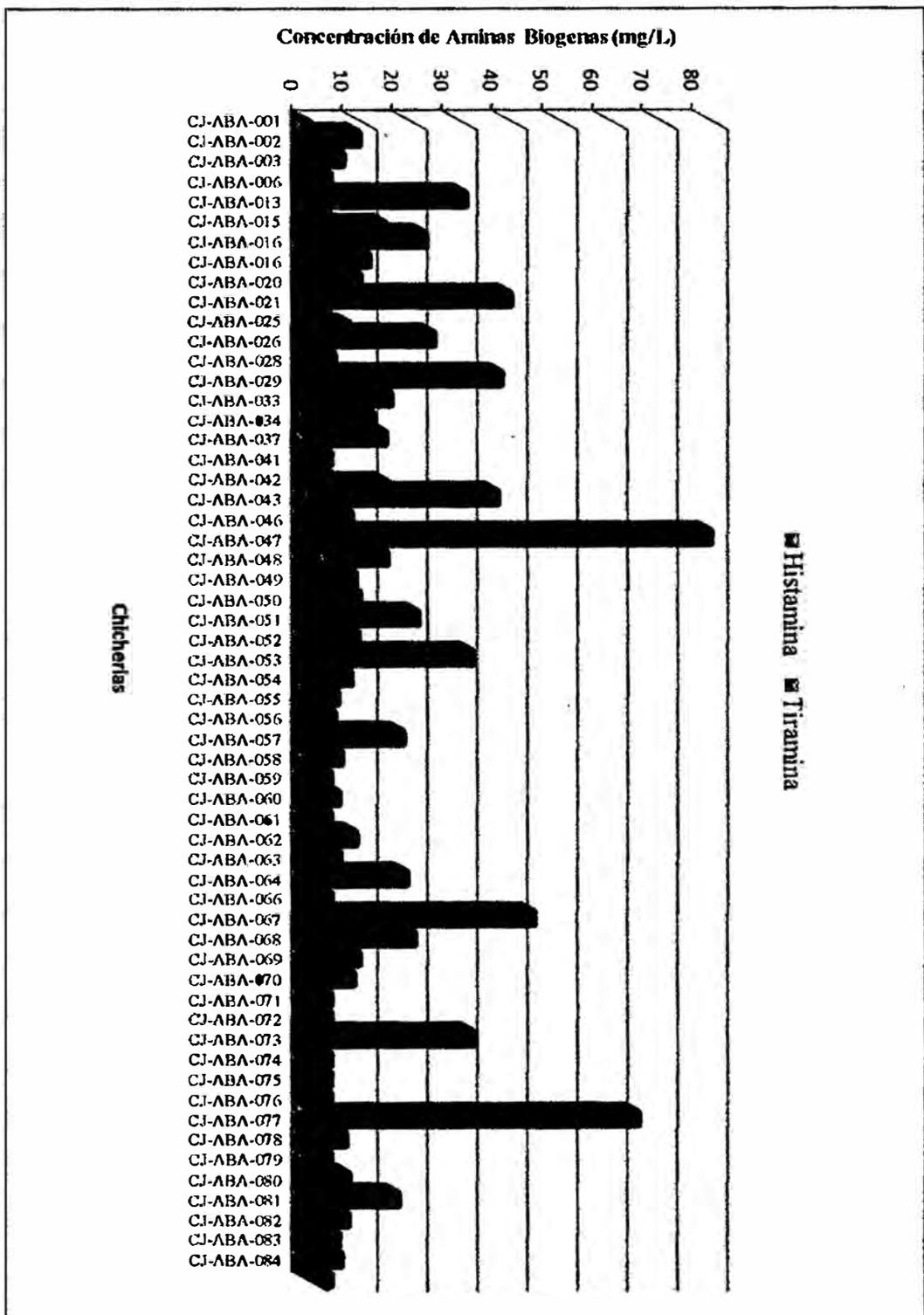
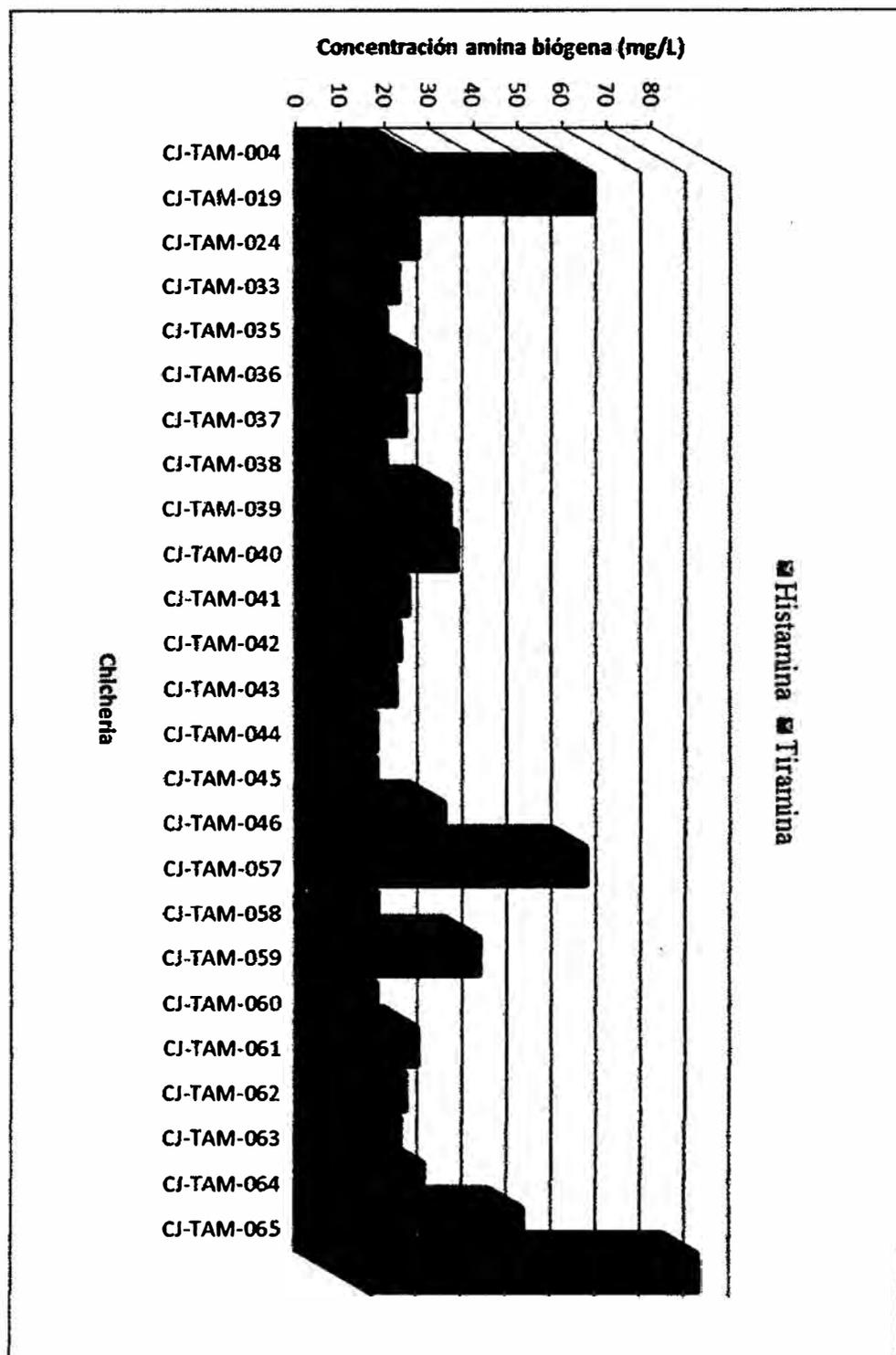


Figura 9. Representación gráfica del contenido de Histamina y Tiramina en las muestras de Chicha de Jora del distrito de Tamburco



En la figura 10.a. y b., se visualizan los Cromatogramas obtenidos durante el análisis de aminas biógenas

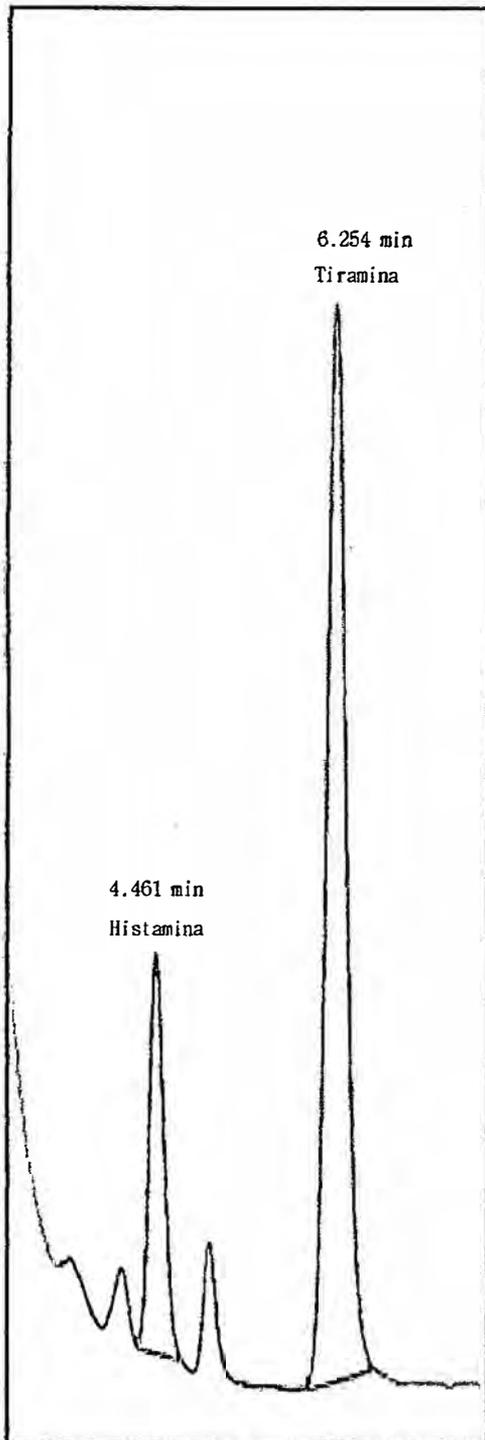


Figura 10.a: cromatograma de la solución estándar de histamina y tiramina

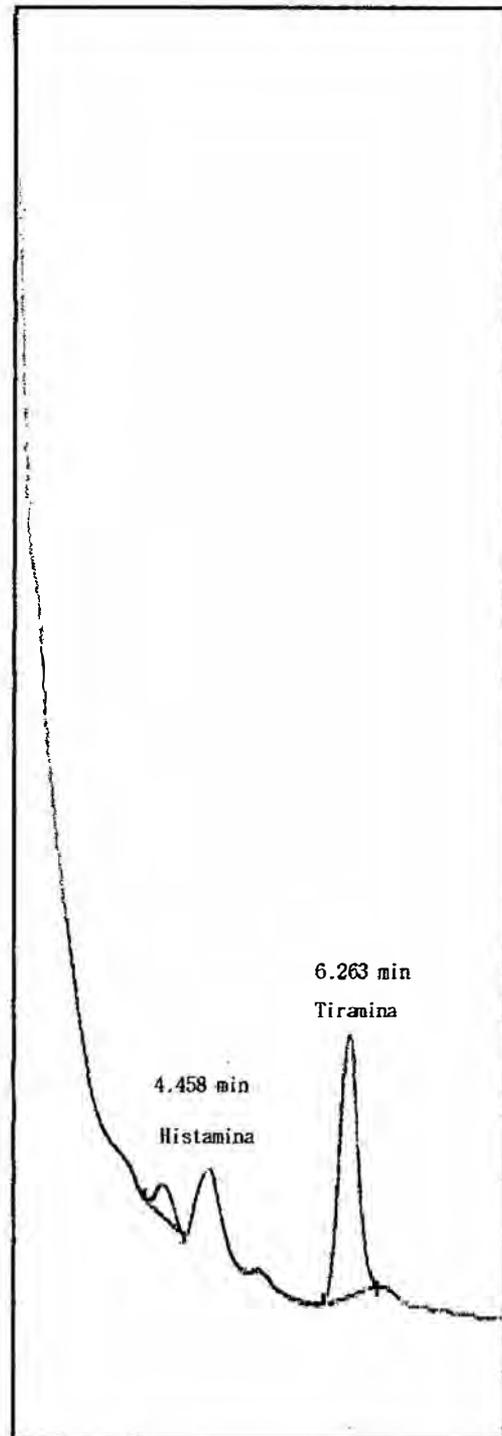


Figura 10.b: cromatograma de una muestra de chicha de jora-en estudio

4.2.3. Contenido de aminas biógenas por distrito y evaluación de los límites permisibles

Con un 95% de nivel de confianza, los resultados de las muestras de chicha de jora en estudio fueron comparados estadísticamente con la concentración límite permisible para cada amina biógena; 8 mg/L para histamina y 25 mg/L para la tiramina, según lo indicado por Soufleros *et al.* (1998), quien considera que estas concentraciones pueden causar efectos fisiológicos negativos tras el consumo de vino, siendo este último la bebida fermentada que presenta más estudios en lo que respecta al contenido de aminas biógenas.

Los resultados de las muestras de chicha de jora fueron evaluados en 2 etapas con la *prueba de t-student para una muestra* utilizando la siguiente formulación de hipótesis nula (H_0) y alterna (H_a), a un 95% de nivel de confianza:

Primera etapa de evaluación:

- ✓ H_0 : El contenido de aminas biógenas en las muestras de chicha de jora *es igual* al límite permitido (8 mg Histamina/L de bebida y 25 mg Tiramina/L de bebida).
- ✓ H_a : El contenido de aminas biógenas en las muestras de chicha de jora *es mayor* al límite permitido (8 mg Histamina/L de bebida y 25 mg Tiramina/L de bebida)

Segunda etapa de evaluación:

- ✓ H_0 : El contenido de aminas biógenas en las muestras de chicha de jora *es igual* al límite permitido (8 mg Histamina/L de bebida y 25 mg Tiramina/L de bebida).
- ✓ H_a : El contenido de aminas biógenas en las muestras de chicha de jora *es menor* al límite permitido (8 mg Histamina/L de bebida y 25 mg Tiramina/L de bebida)

Para el contraste de hipótesis se evaluó el *valor P* de la tabla de resultados de la prueba estadística, utilizando el siguiente criterio:

- ✓ Si el valor $P \geq 0.05$; se acepta la hipótesis nula
- ✓ Si el valor $P < 0.05$; se acepta la hipótesis alterna

Tabla 14. Prueba t-student para una muestra (primera evaluación)

Variable	N	Promedio	Desviación estándar	Error estándar del promedio	Límite Inferior al 95%	T	P
CJ-ABA-001	2	7.72561	0.59281	0.41918	5.07901	-41.21	0.992

Tabla 15. Prueba t-student para una muestra (segunda evaluación)

Variable	N	Promedio	Desviación estándar	Error estándar del promedio	Límite Superior al 95%	T	P
CJ-ABA-001	2	7.72561	0.59281	0.41918	10.37221	-41.21	0.008

En el Anexo 12 se detalla una evaluación estadística adicional sobre las diferencias encontradas entre las muestras de chicha de jora en estudio.

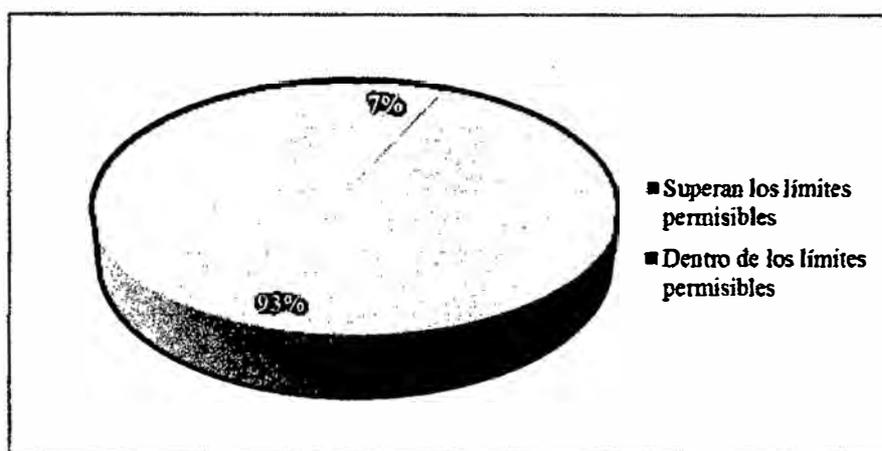


Figura 12. Comparación porcentual de la concentración de histamina de las muestras de Chicha de jora del distrito de Abancay que superaron el límite permisible y las que se encuentran dentro del límite permisible.

Análisis Figura 12: se encontró que sólo el 7% de las muestras analizadas superan los límites permisibles frente a un 93% que se encuentran dentro del rango aceptable. Obteniendo como valor máximo 16.99 mg/L.

Solo 14 resultados fueron evaluados estadísticamente, debido a que las 43 muestras restantes obtuvieron valores menores al límite de cuantificación del método y automáticamente se consideraron como concentraciones inferiores al límite permisible. Para la evaluación porcentual se usaron todos los datos.

4.2.3.2. Histamina en el distrito de Tamburco

En base a los resultados obtenidos en la *Prueba t-student de una muestra*, en la figura 13 se muestran los resultados para el contenido de histamina (valor medio \pm desviación estándar) en comparación estadística con los valores permisibles en el distrito de Tamburco y la figura 14 presenta una evaluación porcentual de los resultados.

Solo 11 resultados fueron evaluados estadísticamente, debido a que las 14 muestras restantes obtuvieron valores menores al límite de cuantificación del método y automáticamente se consideraron como concentraciones inferiores al límite permisible. Para la evaluación porcentual se usaron todos los datos.

4.2.3.3. Tiramina en el distrito de Abancay

En base a los resultados obtenidos en la *Prueba t-student de una muestra*, en la figura 15 se muestran los resultados para el contenido de tiramina (valor medio \pm desviación estándar) en comparación estadística con los valores permisibles en el distrito de Abancay y la figura 16 presenta una evaluación porcentual de los resultados.

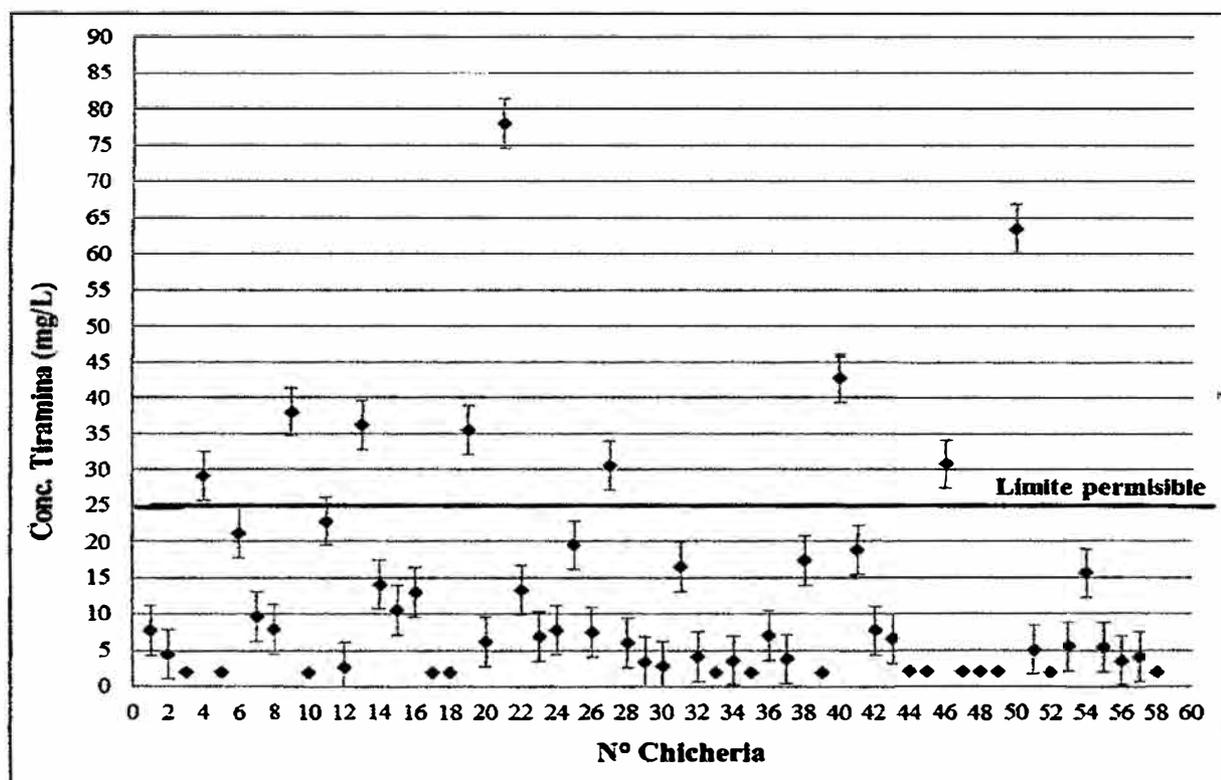


Figura 15. Comparación de la concentración de Tiramina de las muestras de Chicha de jora del distrito de Abancay con el límite máximo permisible.

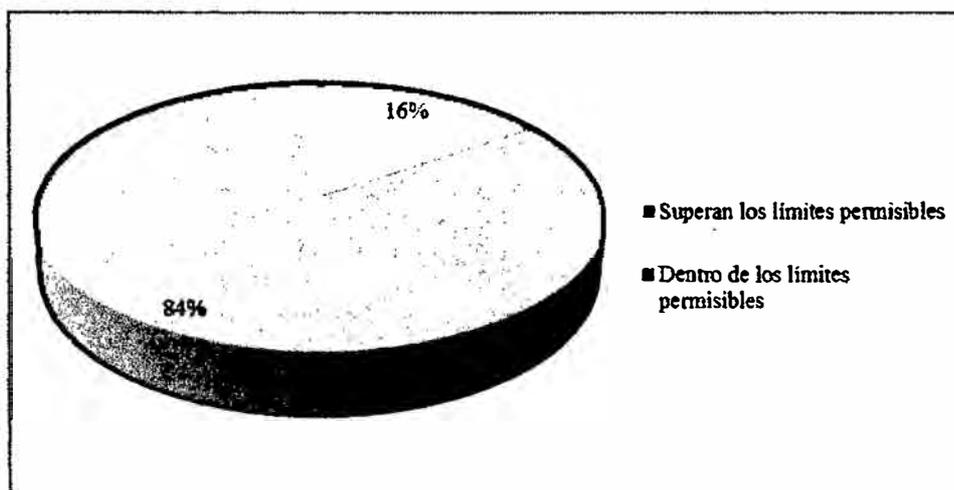


Figura 16. Comparación porcentual de la concentración de tiramina de las muestras de Chicha de jora de la provincia de Abancay que superaron el límite permisible y las que se encuentran dentro del límite permisible.

Análisis Figura 16: según los resultados obtenidos, el 16% de las muestras analizadas superan los límites permisibles y el 84% se encuentra dentro del rango aceptable. Obteniendo como valor máximo 77.95 mg/L.

Sólo 42 resultados fueron evaluados estadísticamente, debido a que las 15 muestras restantes obtuvieron valores menores al límite de cuantificación del método y automáticamente se consideraron como concentraciones inferiores al límite permisible. Para la evaluación porcentual se usaron todos los datos.

4.2.3.4. Tiramina en el distrito de Tamburco

En base a los resultados obtenidos en la *Prueba t-student de una muestra*, en la figura 17 se muestran los resultados para el contenido de tiramina (valor medio \pm desviación estándar) en comparación estadística con los valores permisibles en el distrito de Tamburco y la figura 18 presenta una evaluación porcentual de los resultados.

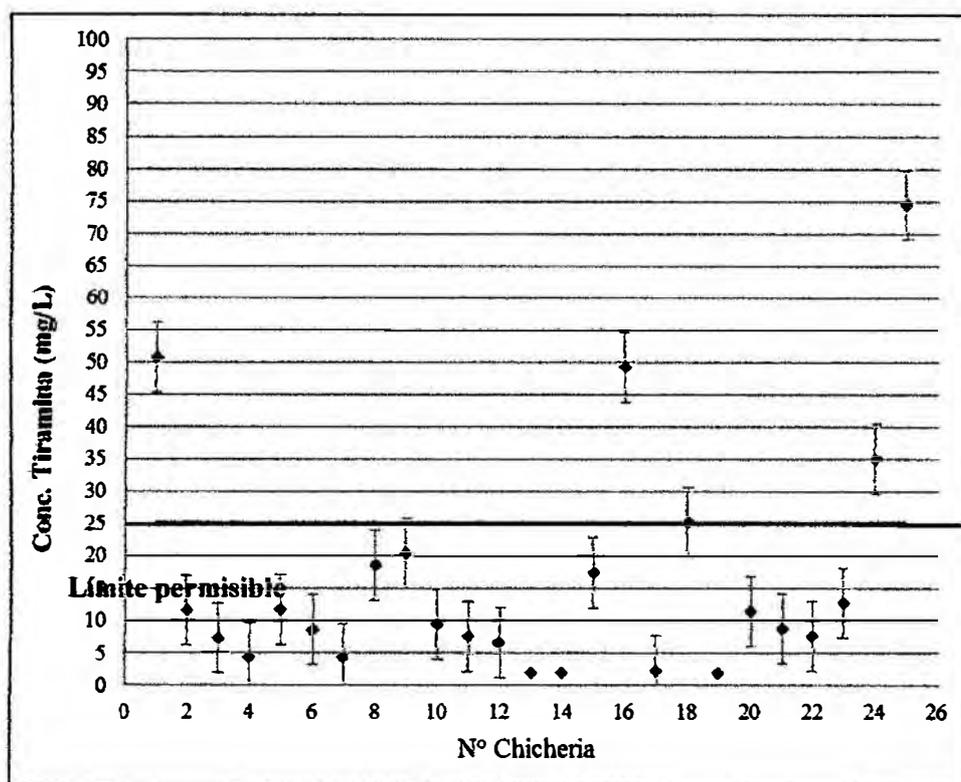


Figura 17. Comparación de la concentración de Tiramina de las muestras de Chicha de jora del distrito de Tamburco con el límite máximo permisible.

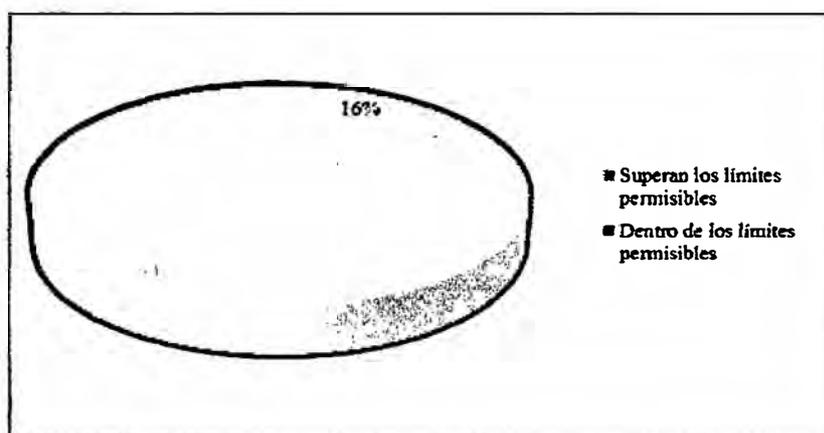


Figura 18. Comparación porcentual de la concentración de Tiramina de las muestras de Chicha de jora del distrito de Tamburco que superaron el límite permisible y las que se encuentran dentro del límite permisible.

Análisis Figura 18: según los resultados obtenidos, el 16% de las muestras analizadas superan los límites permisibles y el 84% se encuentra dentro del rango aceptable. Obteniendo como valor máximo 74.44 mg/L.

Sólo 22 resultados fueron evaluados estadísticamente, debido a que las 3 muestras restantes obtuvieron valores menores al límite de cuantificación del método y automáticamente se consideraron como concentraciones inferiores al límite permisible. Para la evaluación porcentual se usaron todos los datos.

De manera general, el 7% y el 16% de las muestras de chicha de jora del distrito de Abancay superaron los límites permisibles para Histamina y Tiramina respectivamente, y en Tamburco, fue el 12% para Histamina y el 16% para Tiramina. Ninguno de estos valores alcanzó los porcentajes reportados por Zhong *et al.* (2012), quien indicó que el 46% de vinos de arroz estudiados mostraron concentraciones de histamina mayores que 8 mg/L y para tiramina el 31% mayor que 25 mg/L. Por otro lado, a pesar de que en el estudio comparativo realizado por Loret *et al.* (s.f.), la cerveza de fermentación espontánea, presentó la mayor concentración de histamina, tiramina y otras aminas biógenas; no todas las cervecerías de fermentación espontánea mostraron bebidas con alarmantes niveles de histamina y tiramina, una observación que resalta el rol crucial de las prácticas de manufactura local en la calidad del producto final (Loret *et al.*, s.f.).

Cabe resaltar, que estos bajos porcentajes también pueden estar relacionado a sustancias presentes en la chicha de jora. Quillama *et al.*, (1996), reportó que la chicha de jora presentaba bacterias acidolácticas, y en mayor porcentaje *Lactobacillus plantarum*. Joosten y Núñez (1996), en un estudio sobre la prevención de la formación de histamina en queso por Bacteriocinas producidas por bacterias ácido lácticas, obtuvieron resultados que favorecieron la inhibición. Años más tarde, se produjeron bacteriocinas de *Lactobacillus plantarum*, utilizando como sustrato chicha de jora, y se obtuvieron resultados que mostraban la capacidad de inhibición de *Bacillus cereus*, *Staphylococcus*

aureus y *Salmonella sp.* (Huamán, 2013), y bacterias lácticas (Quillama, s.f.). Microorganismos que en su mayoría están relacionados con la formación de **aminas biógenas** (Fernández y Alvares, 2005).

Adicionalmente, Polo *et al.* (2008), en una evaluación de las especies de bacterias lácticas capaces de sintetizar aminas biógenas en vino, concluyó que *Lactobacillus plantarum* no es productor de histamina y para el caso de la tiramina, menos del 1% de *Lactobacillus plantarum* encontrados son productores de esta amina biógena.

Young Kim *et al.* (2011), en una investigación sobre el efecto de las condiciones de almacenamiento de muestras de vino de arroz, determinó que las muestras en estudio, a 20°C, presentaron altas concentraciones de putrescina y tiramina al tercer día de almacenamiento. La conclusión obtenida por Young, puede tomarse como una de las causas para los bajos porcentajes de muestras de chicha de jora, que superan los límites establecidos como permisibles para el contenido de aminas biógenas; ya que el 89% de las muestras de chicha de jora de los distritos de Abancay y Tamburco son comercializadas al siguiente día de su preparación.

4.3. RESULTADOS PARA EL ANÁLISIS DE PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS

4.3.1. Resultados parámetros fisicoquímicos

Todas las muestras de chicha de jora recolectadas fueron analizadas, y los resultados obtenidos se muestran en el Anexo 08. A continuación se presenta una tabla con un resumen de los datos obtenidos:

Tabla 16. Resumen de resultados de parámetros fisicoquímicos

	Acidez (Exp. Ácido láctico)	pH	grado alcohólico	sólidos totales	Densidad*	
	%	unidades pH	%	%	kg/L	
Abancay	Promedio	0.26	3.47	5.13	4.95	1.0111
	Mediana	0.26	3.46	5.14	4.82	1.0102
	Valor min.	0.09	3.08	2.06	1.29	0.9978
	Valor máx.	0.48	3.87	10.30	9.04	1.0272
Tamburco	Promedio	0.28	3.56	5.58	4.00	1.0071
	Mediana	0.29	3.56	5.73	3.34	1.0055
	Valor min.	0.07	3.24	1.14	1.12	0.9988
	Valor máx.	0.43	3.84	8.40	7.36	1.0206

* Calculado con algunos datos de grado alcohólico

%Acidez y pH

Se obtuvieron valores del pH entre 3.08 y 3.87, similar a lo indicado por García -Ventocillo (2008), quien reportó valores de pH entre 3.20 y 3.68 para muestras de chicha de jora provenientes del Valle de Mantaro - Huamanga. Para % acidez los valores obtenidos fueron entre 0.07% y 0.48%, para este parámetro García- Ventocillo reportó valores entre 0,18% y 0,36% expresados en ácido sulfúrico, estos datos al ser expresados en ácido láctico serían 0.33% y 0.66 % «factor ácido láctico 0.09 y

ácido sulfúrico 0.049». Esta diferencia puede atribuirse al tiempo que tienen las muestras desde su elaboración ya que a mayor tiempo de almacenamiento el valor de la acidez ira incrementando (De Florio, 2005 y Canales, 2011).

Grado alcohólico

Se obtuvieron valores entre 1.14% y 10.30% para el grado alcohólico, similar a lo indicado por Manrique (1979), quién reportó valores entre 0.80% y 12% para muestras de chicha de jora de los principales lugares de elaboración tradicional: Arequipa, Cusco, Piura y Lima.

Sólidos totales y densidad

Se obtuvieron valores del % sólidos totales entre 1.12% y 9.04% y densidad entre 0.9978 y 1.0272, y ambos parámetros presentaron un alto grado de correlación entre sí, con un coeficiente de correlación $r = 0.930$ y un modelo matemático «ecuación numérica» con un 86.3% de confianza. Por su lado González (1987) reportó una densidad de 1.0055 para muestras de chicha de jora elaboradas en Catacaos y Sullana, encontrándose dentro del ratio reportado en el presente trabajo de investigación. Cabe resaltar que el amplio rango de valores tanto para los sólidos totales y la densidad encontrada, están altamente relacionados con la cantidad de agua añadida a la jora para la preparación del mosto de jora, y es conocido que en Abancay y Tamburco el 46% añade entre 10 a 30 L de agua para 1 arroba de jora, el 28% de 31 a 70 L de agua, el 21% de 71 a 100 L de agua y el 5% más de 100 L de agua. En el anexo 09 se detalla un preliminar sobre la relación encontrada de algunas muestras en estudio y su proceso de elaboración.

4.3.2. Evaluación de la correlación entre parámetros fisicoquímicos y aminos biógenas

Se estudiaron los coeficientes de correlación entre la histamina, tiramina, y el resto de parámetros analizados con el fin de determinar una posible relación entre ellos. Los valores de los coeficientes de correlación (r) significativamente diferentes de cero ($P < 0,05$) son mostrados en la Tabla 17. Cabe resaltar que la calidad de correlación obtenida es baja ya que tan solo está representada por un 21.9%. Adicionalmente se encontraron correlación entre algunos parámetros fisicoquímicos y entre las aminos biógenas en estudio detallados en el Anexo 13.

Tabla 17. Relación entre aminos biógenas y parámetros fisicoquímicos

Variables	Coefficiente de correlación (r)	Ecuación	%Confianza del modelo matemático (R^2)
Histamina – Tiramina	0.803	$Tiramina = 6.23 + 1.67(Histamina)$	62.7%
Histamina - %Acidez	0.502	$Histamina = -5.24 + 45.3(\%Acidez)$	21.9%
Histamina – pH	--	--	--
Histamina – Grado alcohólico	--	--	--
Histamina – Sólidos totales	--	--	--
Tiramina - %Acidez	--	--	--
Tiramina – pH	--	--	--
Tiramina – Grado alcohólico	--	--	--
Tiramina – Sólidos totales	--	--	--

(--) indica que no se obtuvo una correlación estadísticamente significativa ($P > 0.05$)

Aminas biógenas

En el presente trabajo de investigación, la dependencia encontrada entre la histamina y la tiramina presentó un coeficiente de correlación $r = 0.803$, siendo este mayor que el reportado por Garai-Ibabe (2010), quien obtuvo un coeficiente de correlación $r = 0.67$ en el análisis de aminas biógenas en muestras de sidra, y Zhong, *et al.* (2012), que obtuvo un coeficiente de correlación $r = 0.75$ en el análisis de aminas biógenas en muestras de vino de arroz semi-seco. Estas diferencias hacen presumir que la dependencia Histamina – Tiramina también está influenciada por el tipo de alimento en el que se desarrollan las aminas biógenas. Cabe resaltar el alto grado de correlación obtenido, el que puede ser indicativo de la presencia de un microorganismo con capacidad descarboxilante para ambas aminas biógenas en las muestras analizadas, tal como lo menciona Loret, *et al.* (s.f.). En el Anexo 10 se detalla la relación por proporción encontrada para la histamina y la tiramina.

%Acidez y pH

No se encontró relación significativa de los resultados con el valor de pH; sin embargo el %acidez presentó una relación significativa con la concentración de Histamina, mostrando un coeficiente de correlación $r = 0.502$. Izquierdo *et al.*, (1989), reportó que el contenido de histamina y tiramina en cervezas europeas fueron mayores en cervezas con altos valores de acidez total y de pH. Pero Yongmei (2005), en un estudio de aminas biógenas en vinos de arroz en China, no encontró relación significativa entre las aminas biógenas estudiadas y el valor de pH, similar a los datos reportados por Yegin y Urea (2008), quienes no encontraron correlación significativa entre el pH y el contenido de alguna amina biógena detectada en muestra de boza «bebida fermentada que incluye maíz entre sus ingredientes». De manera general, se menciona que un alto pH aumentaría el contenido de aminas biógenas (Gardini *et al.*, 2005, citado por Garai-Ibabe, 2010); ya que el nivel del pH es un factor

importante que influye en la actividad de descarboxilación del aminoácido (Silla Santos, 1996, citado por E.F.S.A., 2011), siendo el pH óptimo para la actividad amino descarboxilasa entre 4,0 y 5,5 (Halász *et al.*, 1994, citado por Karovicova *et al.*, 2003). Sin embargo, hay dos mecanismos relacionado al pH que actúan simultáneamente, uno provoca el incremento de la acidez que inhibe el crecimiento de microorganismos (Maijala *et al.*, 1993, citado por E.F.S.A., 2011), y el otro afecta la producción y actividad de la enzima porque en un ambiente de pH bajo, se estimulan las bacterias para producir más enzimas descarboxilasas como parte de su mecanismo de defensa contra la acidez (Molenaar *et al.*, 1993, citado por E.F.S.A., 2011). Estos factores contrarios interfieren entre sí y el resultado neto depende de su equilibrio (E.F.S.A., 2011).

Grado alcohólico

Ninguna de las aminas biógenas estudiadas tuvo una correlación significativa ($P > 0.05$) con el contenido alcohólico de las muestras de chicha de jora. En un trabajo de investigación, en un producto similar a nuestra muestra en estudio «la cerveza», se observó que las muestras menos fermentadas tenían los mayores contenidos de histamina; sin embargo, no presentaron una correlación significativa entre el nivel de histamina o tiramina y el contenido de alcohol (Izquierdo *et al.*, 1989). Por su lado Kalac *et al.* (1996) y Romero *et al.* (2003), concluyeron que el contenido de aminas aumenta con el incremento del contenido de alcohol en muestras de cerveza, contradiciendo lo expuesto por Izquierdo. Situación que nos permite expresar que el factor grado alcohólico no en todos los casos será crucial para favorecer o desfavorecer el contenido de aminas biógenas, ya que se presentaran otros factores que definan la situación.

Por otra parte, Landete (2005), reportó que el etanol presente en el vino también influye en la concentración de histamina, encontrando que cuando las concentraciones superaban el 10% v/v de

etanol se observaba una disminución en la población microbiana y por tanto en los niveles de histamina. Sin embargo cuando los niveles de etanol eran iguales o inferiores al 10% v/v, encontró que la producción de histamina aumentaba con la concentración alcohólica; concluyendo que la actividad del enzima descarboxilasa se ve favorecida por la presencia de etanol hasta cierto grado alcohólico.

Sólidos totales y densidad

Ninguno de los parámetros estudiados en este ítem presentó correlación significativa ($P > 0.05$) con histamina y tiramina. Yegin y Uren, (2008), tampoco encontraron correlación significativa entre histamina o tiramina y la materia seca total en muestra de boza, bebida fermentada que incluye maíz entre sus ingredientes.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- El método chileno “NCh 2637. Of 2001: Productos hidrobiológicos – Determinación de histamina y otras aminas biógenas – Método HPLC con detector UV” implementado en el presente trabajo de investigación, es adecuado para el análisis de aminas biógenas en muestras de chicha de jora, ya que los datos presentaron adecuada linealidad dentro del rango de trabajo establecido ($r = 0.999$ en promedio) y presenta porcentajes de recuperación de 98.06% para histamina y 99.21% para tiramina. Adicionalmente se reportaron bajos valores para los límites de cuantificación (1.56 mg/L para histamina y 2.00 mg/L para tiramina) confirmando una adecuada sensibilidad para el análisis de aminas biógenas en las muestras de estudio.
- Con respecto al contenido de aminas biógenas se encontraron valores de hasta 37.53 mg/L para histamina y 77.96 mg/L para tiramina. Al realizar la evaluación estadística a un 95% de nivel de confianza se encontró que, el 7% y el 16% de las muestras del distrito de Abancay superaron los límites permisibles de Histamina (8 mg/L) y Tiramina (25 mg/L) respectivamente, y en Tamburco, fue el 12% para Histamina y el 16% para Tiramina.
- Se obtuvieron valores del pH entre 3.08 y 3.87, % acidez entre 0.07% y 0.48%, grado alcohólico entre 1.14% y 10.30%, % sólidos totales entre 1.12% y 9.04% y densidad entre 0.9978 y 1.0272. Únicamente se presentó una relación significativa ($P > 0.05$) del %Acidez con la concentración de Histamina, mostrando un coeficiente de correlación $r = 0.502$.

RECOMENDACIONES

- Evaluar la influencia del proceso de elaboración de la chicha de jora en la producción de aminas biógenas en la bebida.
- Aislar los microorganismos encargados de la fermentación de la chicha de jora, evaluar su capacidad descarboxilante y su relación con la producción de aminas biógenas.
- Determinar el grado de toxicidad de la chicha de jora con una determinada concentración de aminas biógenas para determinar el límite permisible para el consumo (similar al realizado para el vino).
- Evaluar si hay un componente propio de la chicha de jora que evita la síntesis de aminas biógenas.
- Verificar la influencia de *Sacharomyces cerevisiae* var. *uvarum* en la formación de histamina y tiramina en el proceso de elaboración de la chicha de jora, teniendo en cuenta que se obtuvieron resultados positivos en la elaboración de la cerveza.

BIBLIOGRAFIA

- Arias, J. (2008). *Diversidad genética en las especies del complejo Saccharomyces sensu stricto de fermentaciones tradicionales*. (Tesis Doctoral). Universidad de Valencia. España.
- AOAC. (2000a). *Method 954.04: Histamine in seafood - Biological method. Sec. 35.1.30*. In *Official Methods of Analysis of AOAC International*,
- AOAC. (2000b). *Method 977.13: Histamine in seafood - Fluorometric method. Sec. 35.1.32*. In *Official Methods of Analysis of AOAC International*.
- Bardocz, S. (s.f.). Role of biogenic amines - summing up or what is it we do not know? En S., Bardocz, J., Koninkx, M., Grillo y A., White. (Eds.). (1999). *Biologically active amines in food: Biologically active amines in food processing and amines produced by bacteria, and polyamines and tumour growth*. (pp. 1 - 5). Volume III. COST 917: European Commission. Belgium
- Busto, O. (1996). *Estudio sobre la determinación de Aminas Biógenas en Vinos por HPLC*. Tesis Doctoral. Universidad de Rovira de Virgilia. Tarragona. ISBN: 978-84-693-6292-1
- Camacho, M.; Torres, G.; Izquierdo, P.; Benitez, B.; Allara, M. y Céspedes, E. (2007). Determinación de Aminas Biógenas en Cervezas que se expenden en la Ciudad de Maracaibo – Venezuela. *Revista Multiciencias*, 7 (3), 276 – 281.
- Camino, L. (s.f.). *Norte, chicha y sol*. En R. León y A. Zapata. (s.f.). *CHICHA PERUANA, una bebida, una cultura* (pp. 34 – 71). Lima, Perú: Fondo editorial Universidad de San Martín de Porres.
- Canales, M. (2011). *Estudio de estabilización de la Chicha de Jora*. Tesis para optar el título profesional de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima - Perú.
- Colagioia, E. y Davidovich, L. (s.f.). La cerveza indiana, Ensayo de Etnobotánica, Bromatología e Historia Cultural Precolombinas. En G. Lombera (Dir.) y M. Di Pace (Ed.). (2009). *NEXOS: Secretaria de Ciencia y técnica de la Universidad Nacional de Mar de Plata*, 16 (26), 30 – 38. ISSN 0328-5030.
- Cosansu, S. (2009). Determination of biogenic amines in a fermented beverage, boza. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 7 (2): 54 - 58.
- Cox, L.J.; Caicedo, B.; Vanos, V.; Heck, E.; Hofstaetter, S. y Cordier, J.L. (1987). A catalogue of some Ecuadorean fermented beverages, with notes on their microflora. *MIRCEN Journal*, 3, 143-153.
- Decheva, I.; Emilova, L.; Valentinova, M. y Mardik, N. (2005). *The Boza – a Traditional and Modern Beverage. Bulgaria*. Recuperado de <http://bgthielman.us/recipes/boza/Boza-en.pdf>
- De Florio, E. (1985). *Estudio de la fermentación de la Chicha de Jora*. (Tesis presentada para optar el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias). UNALM. Lima – Perú.

E.F.S.A. (2011). Scientific Opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. *EFSA Journal*, 9 (10): 1 - 93. doi:10.2903/j.efsa.2011.2393.

Ertan, R.; Vural, N.; Demiray, S. y Mert, B. (2006). Biogenic Amine Content of Beers Consumed in Turkey and Influence of Storage Conditions on Biogenic Amine Formation. *Journal of the Institute of Brewing*, 112 (3), 267 - 274. doi: 10.1002/j.2050-0416.2006.tb00723.x

Fernández, M. y Alvares, M. (2005). Las aminas biógenas en los alimentos. *CTC Alimentación* 26, 84-90. ISSN 1577-5917.

Galleguillos, M. (s.f.). *Aminas Biógenas: Nuevos indicadores químicos utilizados como criterios de calidad en harina de pescado*. En E. Castro (Ed.) (1994). *Control de calidad de insumos y dietas acuícolas*. Depósito de documentos de la FAO. Recuperado de <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab482s/AB482S22.htm>

Garai-Ibabe, G. (2010). *Bacterias lácticas de sidra natural: implicación en alteraciones y potencial probiótico de cepas productoras de (1,3)(1,2)-β-D-glucanos*. Tesis Doctoral. Universidad del País Vasco. Vitoria-Gasteiz.

García-Ventocilla, D. y Mamani, G. (2008). *Selección de levaduras nativas Saccharomyces cerevisiae aisladas de chicha de jora del Valle del Mantaro*. Tesis para optar el título profesional de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo - Perú.

Gerardo, O. (2007). Avatares de la Chicha. *POLIGRAMAS*, 27, 1 - 16.

Hough, J. S. (s.f.). *Biología de la cerveza y la malta*. Zaragoza - España: Editorial Acribia

Izquierdo-Pulido, M.; Mariné, A. y Vidal, M. (1994). Biogenic Amines Formation during Malting and Brewing. *Journal of Food Science*, 59 (5), 1104 - 1107. doi: 10.1111/j.1365-2621.1994.tb08201.x

Karovicova, J. y Kohajdova, Z. (2003). Biogenic Amines in Food. *Chem. Pap.* 59 (1): 70 - 79.

Landete, J. M. (2005). *Estudio y caracterización molecular de la producción de aminas biógenas por parte de bacterias lácticas de origen enológico*. (Tesis doctoral). Universidad de Valencia. España.

Loret, S.; Bianchi, D.; Peulen, O.; Deloyer, P. y Dandrifosse, G. (s.f.). Biogenic amines in different types of Belgian beers: a first survey. En S., Bardocz; J., Koninkx; M., Grillo y A., White. (Eds.). (1999). *Biologically active amines in food: Biologically active amines in food processing and amines produced by bacteria, and polyamines and tumour growth*. (pp. 36 - 40). Volume III. COST 917: European Commission. Belgium

Manrique, I. (1979). Especies bacterianas en la Chicha de Jora. *Anales científicos UNA*. XVII (1-4): 9 - 18.

Montibeller, M. (s.f.). *Chicha: vitalidad en los andes*. En R. León y A. Zapata. (s.f.). *CHICHA PERUANA, una bebida, una cultura* (pp. 76 – 119). Lima, Perú: Fondo editorial Universidad de San Martín de Porres.

Moreno, V. (2007). Control de la formación de aminas biógenas durante la elaboración y crianza del vino. Instituto de Fermentaciones Industriales, CSICA. Madrid – España.

Pérez del Arce, F. (2010). *Efecto de la concentración de fosfato diamónico y etanol sobre el contenido de aminas biógenas en vino*. (Tesis para optar al Título profesional de Ingeniero Agrónomo). Universidad de Chile. Santiago - Chile.

Pérez-Cuadrado, J. y Pujol, M. (Cord.) (2001). *Validación de métodos analíticos*. Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria - A.E.F.I. España.

Polo, L.; Pardo, I.; Landete, J.M. y Ferrer, S. (2008). ¿Cómo se identifican las bacterias lácticas responsables de la producción de aminas biógenas en vinos? *ACE: Revista de Enología*, 96. ISSN 1697-4123.

Quattrocchi, O.; Abelaira, S. y Laba, R. (1992). *Introducción a la HPLC: aplicación y práctica*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Artes Gráficas S.A.

Quillama, E.; Pasteris, S. y Manca de Nadra, M. (1996). Las bacterias lácticas y la Chicha de Jora. *Revista Pura Selva*, 142: 12- 13.

Quillama, E. (1998). *Producción de bacteriocinas por cepas de Lactobacillus aisladas de chicha de jora*. (Tesis para optar al grado académico de Magister en Microbiología). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú.

Renouf, V. y Lucas, P. (s.f.). Biogenic Amines: Avoid spontaneous MLF. LAFFORT INFO. Recuperado de <http://vinestovintages.ca/LaffortHelpfulHints/Biogenic%20amines.pdf>

Ruiz-Capillas, C. y Jiménez, F. (2010). Aminas Biógenas: Importancia Toxicológica. *Revista Electron Biomed*, 3: 58 - 60.

Ruiz-Pérez, P. (2010). *Biodiversidad de la Microbiota Láctica presente en la Fermentación Maloláctica de vinos tintos de la variedad cencibel: Caracterización Molecular y Tecnológica para la selección de cepas*. (Tesis Doctoral). Universidad de castilla-la mancha. Toledo.

Saade, M. y Calvo, O. (2001). Jarabe de flor venenosa: la chicha y el surgimiento de una patología colombiana. *Journal of Iberian and Latin American Research*, 7 (2), 19 - 38. doi: 10.1080/13260219.2001.10430029.

Skoog, D.; West, D.; Holler, J. y Crouch, S. (2004). *Fundamentos de Química Analítica*. (8ª Ed.). México: International Thomson Editores, S.A.

Vásquez, V.; Acevedo, M.; Alva, C.; Calderón, E.; Carranza, P.; Carrera, Y., et al. (2010). Efecto de la dilución de chicha de maíz (*Zea mays*) y caudal de ingreso a un sistema de irradiación ultravioleta en el contenido de bacterias mesófilas. *Agroindustrial Science*, 1, 6 - 14.

Yegin, S. y Uren, A. (2008). Biogenic amine content of boza: A traditional cereal-based, fermented Turkish beverage. *Food Chemistry*. 111 (4): 983 - 987.

Yen, G-C. y Chandra, T. (1988). Biogenic amines in alcoholic beverages produced in Taiwan. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 44 (3), 273 - 280. doi: 10.1002/jsfa.2740440308.

Young, J.; Kim, D.; Park, P.; Kang, H.; Kyung, E. y Mi, S. (2011). Effects of storage temperature and time on the biogenic amine content and microflora in Korean turbid rice wine, Makgeolli. *Journal of Food Chemistry*, 128 (1), 87 - 92.

ANEXOS

ANEXO 01: FORMATO DE ENCUESTA PARA LA EVALUACIÓN DE LAS CHICHERÍAS

ENCUESTA

La presente encuesta se realiza con la finalidad de conocer la situación actual de la elaboración y comercialización de la Chicha de Jora en la provincia de Abancay

Código asignado al productor

(Llenado por el encuestador)

		-			-			
--	--	---	--	--	---	--	--	--

I. DATOS GENERALES

1. Ubicación (Dirección/Distrito/Provincia): _____
2. Años de experiencia en la producción de la bebida: _____
3. Frecuencia de producción semanal (¿Qué días?): _____
4. Cantidad producida por semana (¿Cuánto por vez?): _____
5. Días de comercialización: _____

II. MATERIALES Y ACTIVIDADES RELACIONADAS AL PROCESO DE ELABORACION DE CHICHA DE JORA

(Llene los espacios en blanco con la respuesta que considere adecuada o Marque con un aspa "X" el cuadrante que incluya la respuesta correcta)

I. ELABORACIÓN DE LA JORA

1.1 ¿Ud., Elabora la Jora?

SI

NO

Si su respuesta fue NO, llene el siguiente ítem, de lo contrario responder las preguntas a partir del ítem 1.3.

1.2 Información relacionada a la jora adquirida (Ej.: comprada)

1.2.1. Lugar de adquisición: _____

1.3 ¿Qué maíz utiliza para la producción de la Jora?

1.4 ¿Cuáles son las condiciones y tiempo de remojo del maíz utilizado para la elaboración de la jora?

*material en el que realiza el remojo

a) recipientes de plástico

c) vasijas de barro

b) pozos de piedra

d) otros (especificar): _____

***tiempo de remojo**

- a) menor a 1 día (24 horas) c) entre 2 y 3 días (49 y 72 horas)
b) entre 1 y 2 días (24 y 48 horas) d) otros (especificar): _____

1.5 ¿Cuáles son las condiciones y tiempo de germinación utilizado para la elaboración de la jora?

***material en el que realiza la germinación**

- a) recipientes de plástico c) vasijas de barro
b) pozos de piedra d) otros (especificar): _____

***ambiente acondicionado para la germinación del maíz**

- a) cubiertos con hierbas de la zona c) cubiertos con mantel húmedo
b) cubiertos con paja o ichu d) otros (especificar): _____

***tiempo utilizado para la germinación**

- a) menor a 1 día (24 horas) c) entre 2 y 3 días (49 y 72 horas)
b) entre 1 y 2 días (24 y 48 horas) d) otros (especificar): _____

1.6 ¿Cuáles son las condiciones y tiempo de secado utilizado para la elaboración de la jora?

***ambiente en el que realiza el secado**

- a) expuesto al sol c) en un equipo de secado
b) expuesto a temperatura ambiente d) otros (especificar): _____

***tiempo utilizado para el secado**

- a) menor a 1 día (24 horas) c) entre 2 y 3 días (49 y 72 horas)
b) entre 1 y 2 días (24 y 48 horas) d) otros (especificar): _____

2. MOLIENDA DE LA JORA

2.1 ¿Cuáles son las condiciones utilizadas para la molienda de la jora?

***equipo y/o material utilizado para la molienda**

- a) batan o molino de piedra c) molino mecánico
b) molino sin fin manual d) otros (especificar): _____

3. ELABORACIÓN DEL MOSTO

3.1 Aparte de la Jora ¿utiliza algún otro producto para la elaboración del mosto de Chicha de jora?, ¿Cuáles son?

3.2 ¿Cuáles son las condiciones y el tiempo utilizado para la cocción del mosto de la jora?

***Cantidad de agua utilizada para 1 arroba (11.5 Kg) de jora**

- a) 10 a 30 Litros c) 71 a 100 Litros
b) 31 a 70 Litros d) otros (especificar): _____

***tiempo utilizado para la cocción**

a) menor a 1 hora

b) entre 1 y 3 horas

c) entre 4 y 7 horas

d) otros (especificar): _____

4. FERMENTACIÓN DE LA CHICHA DE JORA

4.1 ¿Cuáles son las condiciones y el tiempo utilizado para la fermentación de la chicha de jora?

***material en el que realiza la fermentación**

a) recipientes de plástico

b) recipientes metálicos (Ej.: olla)

c) vasijas de barro

d) otros (especificar): _____

***Producto y/o agente utilizado para la fermentación del mosto**

a) Chicha madura (Borra o qoncho)

b) Micro flora del recipiente de fermentación

c) Levadura industrial

d) otros (especificar): _____

***tiempo utilizado para la fermentación hasta que se inicia el consumo y/o venta**

a) menor a 1 día (24 horas)

b) entre 1 y 2 días (24 y 48 horas)

c) entre 2 y 3 días (49 y 72 horas)

d) otros (especificar): _____

III. DISTRIBUCIÓN

1. CONSUMO Y/O VENTA

(Marque con un aspa "X" el cuadrante que incluya la respuesta correcta)

1.1. ¿le agrega algún ingrediente a la bebida antes de su consumo y/o venta?

SI

NO

Si su respuesta fue si, continúe con la siguiente pregunta, de lo contrario pasar a la pregunta 1.4.

1.2. ¿qué ingrediente le agrega a la bebida antes de su consumo y/o venta?

a) Azúcar

b) canela en polvo

c) otros (especificar): _____

1.3. ¿cuántos días se almacena la chicha destinada al consumo y/o venta?

a) menor a 1 día (24 horas)

b) entre 1 y 2 días (24 y 48 horas)

c) entre 2 y 3 días (49 y 72 horas)

d) otros (especificar): _____

1.4. ¿Cuáles son las condiciones utilizadas para el almacenamiento de la chicha de jora?

***Temperatura de almacenamiento**

a) refrigeración (entre 2 y 8°C)

b) congelación (menor a 0°C)

c) ambiente (entre 15 y 25°C)

d) otros (especificar): _____

Gracias por su contribución

ANEXO 02:
FORMATO PARA LA EXPLORACIÓN PRELIMINAR DE CHICHERÍAS

**PRODUCCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE CHICHA DE JORA EN LOS DISTRITOS DE
ABANCA Y TAMBURCO**

Con la finalidad de conocer la situación actual de la producción y comercialización de chicha de jora en los distritos de Abanca y Tamburco se aplica el siguiente cuestionario para ubicar los centros de venta de esta bebida milenaria. Por lo que, si UD conoce alguna chichería le solicitamos conteste las preguntas que a continuación se detallan.

Nº	¿Dónde se encuentra ubicada la chichería? (dirección y/o alguna referencia)	¿Qué tipos de chicha comercializan? (jora, frutillada, etc.)	¿Qué días atiende?	Observaciones y/o datos adicionales



ANEXO 03: PERIÓDICO CHASKY, INFORMA EL CIERRE DE VARIOS ESTABLECIMIENTOS DE VENTA DE CHICHA DE JORA



“La Municipalidad Provincial de Abancay a través de la Gerencia de Administración Tributaria y Rentas, clausuró un total de 12 establecimientos dedicados a la venta de bebidas alcohólicas convertidas en antros de perdición para jóvenes y adultos.

Esta clausura se efectuó porque dichos establecimientos funcionaban clandestinamente e incumplían las normas emitidas por la Municipalidad Provincial de Abancay. Asimismo en las afueras de estos antros se producían peleas callejeras y asaltos a transeúntes diariamente.

Al momento de la clausura los vecinos contaron los malos sucesos que se producían a día a día por presencia de estas chicherías, cantinas y discotecas

situadas en el Jr. Uruguay, Av. Perú, Av. Chile, Av. Panamericana y la Urb. FONAVI, los mismos que ahora están impedidos a reabrir sus puertas, de lo contrario se procederá con las acciones legales correspondientes.

Durante la intervención, se puso de conocimiento a los propietarios los motivos por los que sus establecimientos serán clausurados, y ante ello los vecinos reconocieron esta labor de control que permite acabar con la presencia de delincuentes por las zonas mencionadas. Este operativo se realizó de manera conjunta y coordinada entre la Municipalidad Provincial de Abancay, el Ministerio Público, y la Policía Nacional del Perú, con el apoyo del Cuerpo de Serenazgo e integrantes de la Gerencia de Medio Ambiente y Servicios Públicos”.

ANEXO 04:
MAPAS DE LA DELIMITACIÓN DEL ESTUDIO

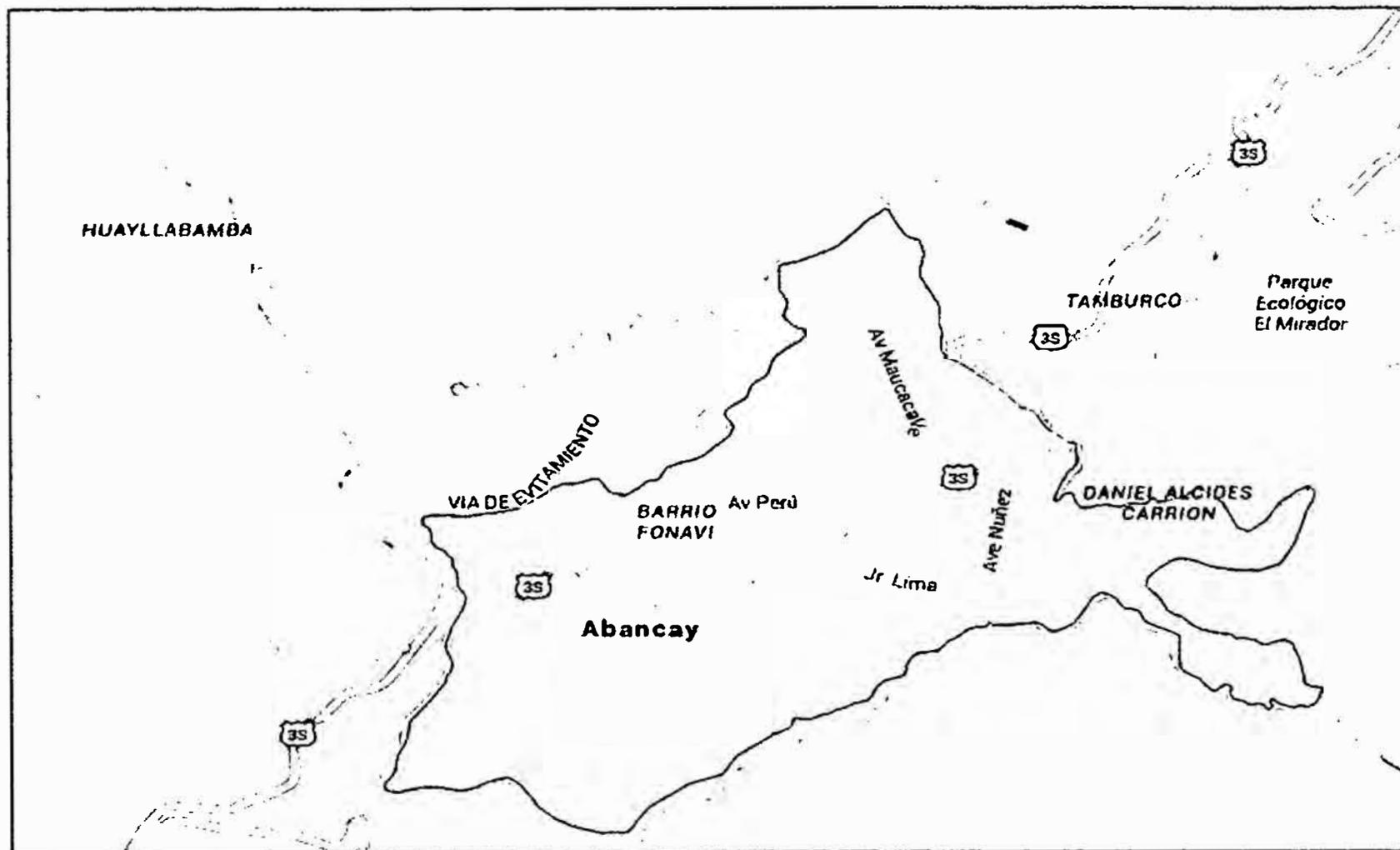


Figura 19. Mapa del distrito de Abancay

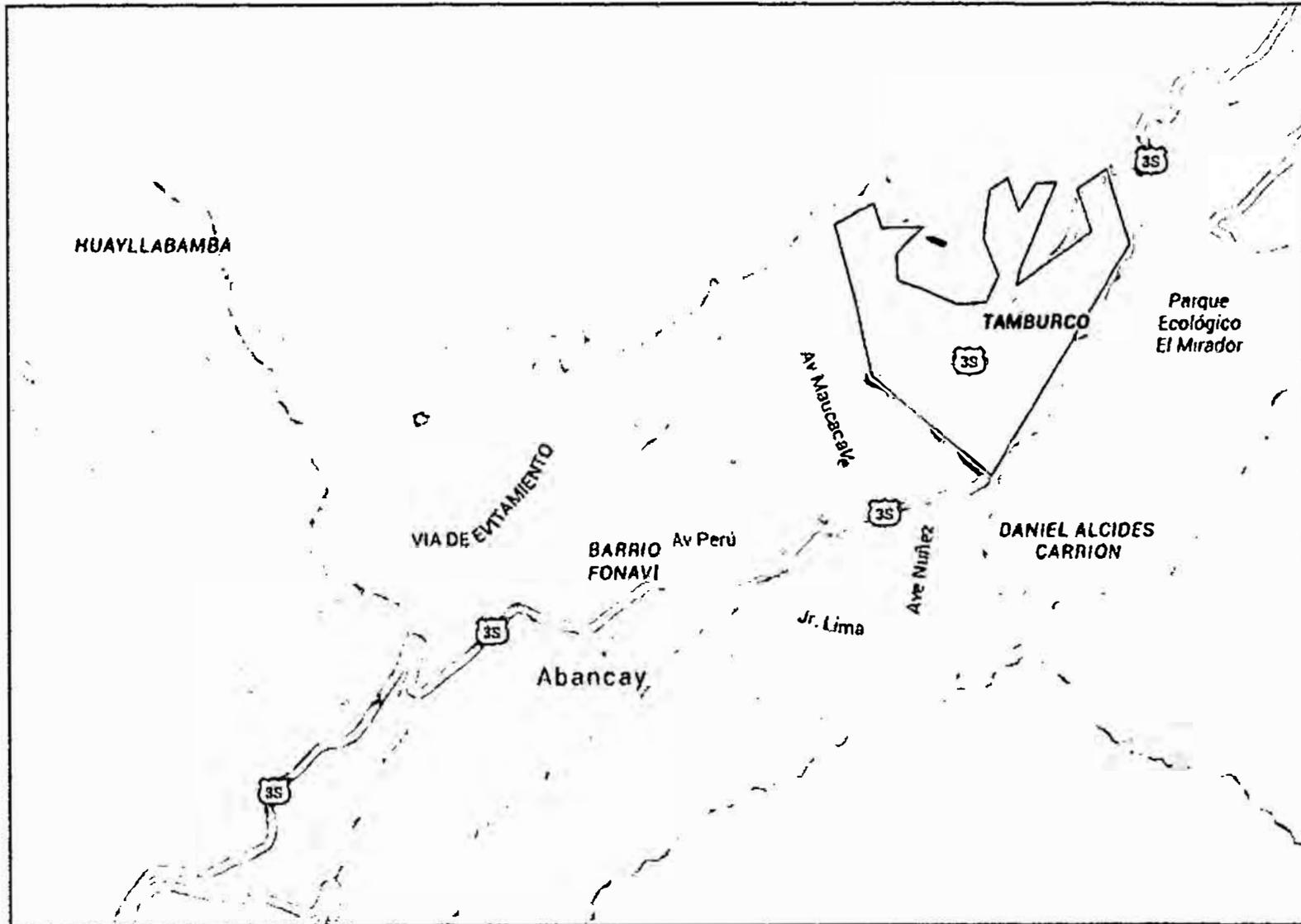


Figura 20. Mapa del distrito de Tamburco.

**ANEXO 05:
MAPA CON LA DISTRIBUCIÓN DE CHICHERÍAS EN ABANCAY Y TAMBURCO**

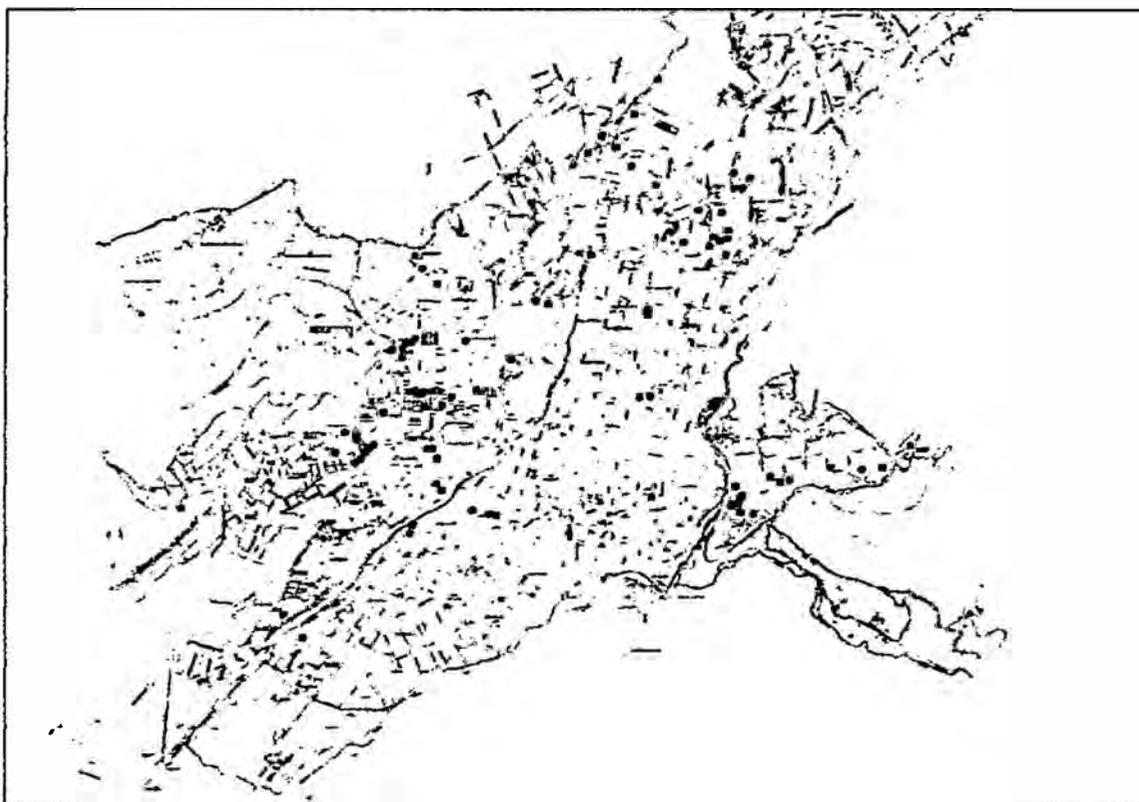


Figura 21. Mapa con la distribución de chicherías en Abancay y Tamburco

**ANEXO 06:
RESULTADOS DE ENCUESTAS**

Tabla 18. Resultados de las encuestas realizadas a diferentes chicherías

Código	Elaboración del mosto			Fermentación		
	Proporción Jora : Agua	Tiempo de cocción	Etapas de cocción	Recipiente para la fermentación	Insumo utilizado para la fermentación	Tiempo de fermentación
ABANCAY						
CJ-ABA-001	más de 100 L	menor a 1 hora	1	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-002	71 a 100 L	menor a 1 hora	1	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-003	más de 100 L	menor a 1 hora	1	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-004	31 a 70 L	menor a 1 hora	1	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-005	31 a 70 L	entre 1 y 3 horas	2	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-006	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
CJ-ABA-007	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
CJ-ABA-008	31 a 70 L	entre 1 y 3 horas	2	vasijas de barro	Chicha madura	entre 2 y 3 días
CJ-ABA-009	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
CJ-ABA-010	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
CJ-ABA-011	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
CJ-ABA-012	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
CJ-ABA-013	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
CJ-ABA-014	más de 100 L	menor a 1 hora	1	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-015	31 a 70 L	menor a 1 hora	1	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-016	más de 100 L	menor a 1 hora	1	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-017	más de 100 L	menor a 1 hora	2	olla metálica	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-018	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
CJ-ABA-019	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.

CJ-ABA-020	71 a 100 L	entre 1 y 3 horas	1	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-021	71 a 100 L	menor a 1 hora	1	vasijas de barro	microflora del recipiente	menor a 1 día
CJ-ABA-022	más de 100 L	entre 1 y 3 horas	2	vasijas de barro	Chicha madura	entre 1 y 2 días
CJ-ABA-023	más de 100 L	menor a 1 hora	1	recipiente de plástico	microflora del recipiente	entre 1 y 2 días
CJ-ABA-024	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
CJ-ABA-025	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
CJ-ABA-026	más de 100 L	menor a 1 hora	1	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-027	31 a 70 L	menor a 1 hora	1	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-028	más de 100 L	entre 1 y 3 horas	2	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-029	más de 100 L	entre 1 y 3 horas	2	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-030	más de 100 L	menor a 1 hora	1	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-031	más de 100 L	menor a 1 hora	1	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-032	más de 100 L	menor a 1 hora	2	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-033	más de 100 L	entre 1 y 3 horas	2	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-034	71 a 100 L	entre 4 y 7 horas	2	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-035	71 a 100 L	entre 1 y 3 horas	2	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-036	71 a 100 L	menor a 1 hora	2	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-037	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
CJ-ABA-038	31 a 70 L	menor a 1 hora	2	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-039	71 a 100 L	menor a 1 hora	2	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-040	31 a 70 L	menor a 1 hora	2	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-041	más de 100 L	menor a 1 hora	2	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-042	71 a 100 L	entre 1 y 3 horas	2	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-043	71 a 100 L	entre 1 y 3 horas	2	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-044	31 a 70 L	menor a 1 hora	1	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-045	más de 100 L	menor a 1 hora	1	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-046	31 a 70 L	entre 1 y 3 horas	1	otro: tinaja de caucho	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-047	31 a 70 L	entre 1 y 3 horas	2	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día

CJ-ABA-048	31 a 70 L	entre 1 y 3 horas	2	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-049	31 a 70 L	entre 1 y 3 horas	2	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-050	31 a 70 L	entre 1 y 3 horas	2	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-051	más de 100 L	entre 1 y 3 horas	2	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-052	31 a 70 L	menor a 1 hora	1	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-053	10 a 30 L	menor a 1 hora	2	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-054	31 a 70 L	menor a 1 hora	1	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-055	más de 100 L	menor a 1 hora	2	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-056	más de 100 L	menor a 1 hora	2	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-ABA-057	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
CJ-ABA-058	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
CJ-ABA-059	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.

TAMBURCO

CJ-TAM-001	31 a 70 L	menor a 1 hora	1	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-TAM-002	más de 100 L	menor a 1 hora	1	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-TAM-003	más de 100 L	menor a 1 hora	1	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-TAM-004	más de 100 L	menor a 1 hora	1	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-TAM-005	71 a 100 L	entre 1 y 3 horas	2	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-TAM-006	31 a 70 L	entre 1 y 3 horas	2	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-TAM-007	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
CJ-TAM-008	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
CJ-TAM-009	10 a 30 L	entre 1 y 3 horas	2	vasijas de barro	Chicha madura	entre 1 y 2 días
CJ-TAM-010	31 a 70 L	menor a 1 hora	1	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día

CJ-TAM-011	31 a 70 L	menor a 1 hora	1	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-TAM-012	más de 100 L	entre 1 y 3 horas	2	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-TAM-013	más de 100 L	menor a 1 hora	1	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-TAM-014	10 a 30 L	menor a 1 hora	1	vasijas de barro	Chicha madura	entre 1 y 2 días
CJ-TAM-015	más de 100 L	menor a 1 hora	2	vasijas de barro	Chicha madura	entre 1 y 2 días
CJ-TAM-016	más de 100 L	entre 1 y 3 horas	1	vasijas de barro	Chicha madura	entre 2 y 3 días
CJ-TAM-017	10 a 30 L	menor a 1 hora	2	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-TAM-018	más de 100 L	entre 1 y 3 horas	1	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-TAM-019	más de 100 L	entre 1 y 3 horas	2	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-TAM-020	más de 100 L	entre 1 y 3 horas	2	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-TAM-021	71 a 100 L	entre 1 y 3 horas	2	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-TAM-022	71 a 100 L	entre 1 y 3 horas	2	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-TAM-023	71 a 100 L	entre 1 y 3 horas	2	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-TAM-024	más de 100 L	menor a 1 hora	2	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-TAM-025	más de 100 L	entre 1 y 3 horas	2	otro: bidón de caucho	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-TAM-026	71 a 100 L	entre 4 y 7 horas	2	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-TAM-027	más de 100 L	entre 1 y 3 horas	2	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-TAM-028	71 a 100 L	menor a 1 hora	2	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-TAM-	más de 100 L	entre 1 y 3 horas	2	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día

029

CJ-TAM-030	más de 100 L	menor a 1 hora	2	vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día
CJ-TAM-031	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
CJ-TAM-032	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.

s.d.: sin datos

**ANEXO 07:
RESULTADOS PARA EL ANÁLISIS DE AMINAS BIÓGENAS**

Todas las muestras de chicha de jora recolectadas fueron analizadas, y los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 19.

Tabla 19.a. Contenido de aminas biógenas en muestras de chicha de jora del distrito de Abancay

Código chichería	Histamina	Tiramina
	mg/L	mg/L
CJ-ABA-001	< 1.56	7.73 ± 0.59
CJ-ABA-002	< 1.56	4.46 ± 0.02
CJ-ABA-003	1.78 ± 0.00	< 2.00
CJ-ABA-006	< 1.56	29.05 ± 0.64
CJ-ABA-013	< 1.56	< 2.00
CJ-ABA-015	16.75 ± 0.11	21.08 ± 0.14
CJ-ABA-016	< 1.56	9.68 ± 0.76
CJ-ABA-020	6.97 ± 0.26	37.99 ± 0.15
CJ-ABA-021	< 1.56	< 2.00
CJ-ABA-025	9.43 ± 0.07	22.75 ± 0.24
CJ-ABA-026	< 1.56	2.72 ± 0.11
CJ-ABA-028	2.06 ± 0.08	36.17 ± 0.25
CJ-ABA-029	< 1.56	14.06 ± 0.04
CJ-ABA-033	2.25 ± 0.13	10.47 ± 0.38
CJ-ABA-034	< 1.56	13.02 ± 0.39
CJ-ABA-037	< 1.56	< 2.00
CJ-ABA-041	< 1.56	< 2.00
CJ-ABA-042	16.99 ± 0.08	35.42 ± 1.02
CJ-ABA-043	2.81 ± 0.18	6.14 ± 0.25

Continua de Tabla 19.a.

Código chichería	Histamina	Tiramina
	mg/L	mg/L
CJ-ABA-046	< 1.56	77.95 ± 1.02
CJ-ABA-047	< 1.56	13.29 ± 0.02
CJ-ABA-048	5.62 ± 0.56	6.88 ± 0.06
CJ-ABA-049	< 1.56	7.83 ± 0.25
CJ-ABA-050	< 1.56	19.45 ± 0.68
CJ-ABA-051	< 1.56	7.49 ± 0.51
CJ-ABA-052	< 1.56	30.48 ± 1.75
CJ-ABA-053	< 1.56	6.05 ± 0.73
CJ-ABA-054	< 1.56	3.45 ± 0.10
CJ-ABA-055	< 1.56	2.80 ± 0.02
CJ-ABA-056	< 1.56	16.48 ± 0.36
CJ-ABA-057	< 1.56	4.15 ± 0.21
CJ-ABA-058	< 1.56	< 2.00
CJ-ABA-059	< 1.56	3.62 ± 0.23
CJ-ABA-060	< 1.56	< 2.00
CJ-ABA-061	2.14 ± 0.04	7.05 ± 0.32
CJ-ABA-062	1.83 ± 0.26	3.80 ± 0.20
CJ-ABA-063	3.59 ± 0.21	17.29 ± 0.79
CJ-ABA-064	< 1.56	< 2.00
CJ-ABA-066	< 1.56	42.70 ± 1.77
CJ-ABA-067	9.03 ± 0.25	18.78 ± 0.96
CJ-ABA-068	< 1.56	7.70 ± 0.50
CJ-ABA-069	< 1.56	6.56 ± 0.01
CJ-ABA-070	< 1.56	< 2.00
CJ-ABA-071	< 1.56	< 2.00
CJ-ABA-072	< 1.56	30.75 ± 1.53

Continua de Tabla 19.a.

Código chichería	Histamina	Tiramina
	mg/L	mg/L
CJ-ABA-073	< 1.56	< 2.00
CJ-ABA-074	< 1.56	< 2.00
CJ-ABA-075	< 1.56	< 2.00
CJ-ABA-076	< 1.56	63.51 ± 2.99
CJ-ABA-077	< 1.56	5.06 ± 0.33
CJ-ABA-078	2.08 ± 0.25	< 2.00
CJ-ABA-079	< 1.56	5.54 ± 0.10
CJ-ABA-080	< 1.56	15.52 ± 0.78
CJ-ABA-081	< 1.56	5.46 ± 0.34
CJ-ABA-082	< 1.56	3.61 ± 0.18
CJ-ABA-083	< 1.56	4.10 ± 0.21
CJ-ABA-084	< 1.56	< 2.00

Nota: se reportó concentración amina biógena ± Desviación estándar

Tabla 19.b. Contenido de aminas biógenas en muestras de chicha de jora del distrito de Tamburco

Código chichería	Histamina	Tiramina
	mg/L	mg/L
CJ-TAM-004	19.42 ± 0.44	50.71 ± 0.42
CJ-TAM-019	< 1.56	11.63 ± 0.87
CJ-TAM-024	< 1.56	7.22 ± 0.18
CJ-TAM-033	< 1.56	4.25 ± 0.27
CJ-TAM-035	4.30 ± 0.32	11.85 ± 0.23
CJ-TAM-036	< 1.56	8.65 ± 0.09
CJ-TAM-037	< 1.56	4.20 ± 0.11

Continua de Tabla 19.b.

Código chichería	Histamina	Tiramina
	mg/L	mg/L
CJ-TAM-038	< 1.56	18.64 ± 0.03
CJ-TAM-039	1.56 ± 0.04	20.39 ± 0.28
CJ-TAM-040	< 1.56	9.43 ± 0.42
CJ-TAM-041	2.51 ± 0.09	7.54 ± 0.34
CJ-TAM-042	5.85 ± 0.02	6.56 ± 0.03
CJ-TAM-043	< 1.56	< 2.00
CJ-TAM-044	< 1.56	< 2.00
CJ-TAM-045	4.09 ± 0.50	17.41 ± 0.31
CJ-TAM-046	< 1.56	49.30 ± 3.27
CJ-TAM-057	2.65 ± 0.32	2.28 ± 0.14
CJ-TAM-058	< 1.56	25.30 ± 1.36
CJ-TAM-059	< 1.56	< 2.00
CJ-TAM-060	< 1.56	11.46 ± 0.01
CJ-TAM-061	1.71 ± 0.25	8.82 ± 0.07
CJ-TAM-062	11.83 ± 1.10	7.63 ± 0.31
CJ-TAM-063	9.60 ± 0.08	12.81 ± 0.24
CJ-TAM-064	< 1.56	35.13 ± 2.49
CJ-TAM-065	37.53 ± 1.06	74.44 ± 3.63

Nota: se reportó concentración de amina biógena ± Desviación estándar

**ANEXO 08:
RESULTADOS DE PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS**

Tabla 20.a. Parámetros fisicoquímicos en muestras de chicha de jora del distrito de Abancay

Código chichería	Acidez (Esp. Ácido Láctico)	pH	grado alcohólico	sólidos totales	Densidad
	%	unidades pH	%	%	kg/L
CJ-ABA-001	0.38	3.54	5.97	6.63	1.0211
CJ-ABA-002	0.29	3.46	6.66	3.60	1.0051
CJ-ABA-003	0.17	3.41	4.59	4.19	1.0050
CJ-ABA-006	0.28	3.38	3.24	6.10	1.0164
CJ-ABA-013	0.34	3.08	4.48	7.28	1.0240
CJ-ABA-015	0.45	3.29	6.33	7.67	1.0226
CJ-ABA-016	0.27	3.43	2.73	1.29	1.0004
CJ-ABA-020	0.20	3.20	5.33	2.49	1.0043
CJ-ABA-021	0.39	3.32	5.91	3.67	1.0052
CJ-ABA-025	0.45	3.27	2.77	4.97	1.0141
CJ-ABA-026	0.17	3.47	3.56	5.59	1.0148
CJ-ABA-028	0.26	3.87	4.54	5.13	1.0095
CJ-ABA-029	0.26	3.39	5.03	6.92	1.0195
CJ-ABA-033	0.41	3.26	7.03	4.93	1.0120
CJ-ABA-034	0.28	3.39	5.15	2.14	0.9984
CJ-ABA-037	0.20	3.57	5.54	3.92	1.0075
CJ-ABA-041	0.25	3.41	6.68	9.04	1.0266
CJ-ABA-042	0.31	3.73	5.50	5.64	1.0135
CJ-ABA-043	0.27	3.5	4.92	4.23	1.0056
CJ-ABA-046	0.24	3.60	7.34	4.23	1.0054

Continua de Tabla 20.a

Código chichería	Acidez (Req. Ácido Mácico)	pH	grado alcohólico	sólidos totales	Densidad
	%	unidades pH	%	%	kg/L
CJ-ABA-047	0.35	3.46	7.54	8.07	1.0208
CJ-ABA-048	0.34	3.46	6.75	2.86	1.0013
CJ-ABA-049	0.21	3.83	10.30	5.89	1.0149
CJ-ABA-050	0.19	3.42	5.03	1.84	0.9978
CJ-ABA-051	0.41	3.47	5.10	5.34	1.0112
CJ-ABA-052	0.16	3.79	5.70	4.18	1.0071
CJ-ABA-053	0.27	3.63	6.76	3.87	1.0008
CJ-ABA-054	0.25	3.21	4.66	6.16	1.0172
CJ-ABA-055	0.32	3.36	4.63	7.78	1.0236
CJ-ABA-056	0.14	3.64	3.88	4.82	1.0119
CJ-ABA-057	0.32	3.46	5.03	6.37	1.0182
CJ-ABA-058	0.31	3.27	6.55	2.34	1.0002
CJ-ABA-059	0.15	3.56	5.14	4.56	1.0109
CJ-ABA-060	0.13	3.62	5.74	2.27	1.0004
CJ-ABA-061	0.20	3.61	5.22	8.65	1.0272
CJ-ABA-062	0.24	3.32	4.34	1.74	1.0006
CJ-ABA-063	0.23	3.76	4.02	5.99	1.0186
CJ-ABA-064	0.27	3.13	2.06	4.47	1.0121
CJ-ABA-066	0.26	3.64	5.60	3.17	1.0045
CJ-ABA-067	0.26	3.31	5.28	2.42	1.0018
CJ-ABA-068	0.17	3.50	2.65	7.70	1.0239
CJ-ABA-069	0.23	3.55	4.71	8.03	1.0249
CJ-ABA-070	0.12	3.61	4.28	4.38	1.0100
CJ-ABA-071	0.36	3.34	7.34	5.83	1.0108
CJ-ABA-072	0.18	3.59	6.05	4.74	1.0012
CJ-ABA-073	0.31	3.15	4.03	5.65	1.0044

Continua de Tabla 20.a

Código chichería	Acidez (Exp. Ácido Máxico)	pH	grado alcohólico	sólidos totales	Densidad
	%	unidades pH	%	%	kg/L
CJ-ABA-074	0.38	3.10	4.18	6.99	1.0209
CJ-ABA-075	0.21	3.37	5.88	5.31	1.0122
CJ-ABA-076	0.18	3.57	4.11	7.17	1.0219
CJ-ABA-077	0.09	3.71	3.40	4.16	1.0102
CJ-ABA-078	0.11	3.38	2.56	6.03	1.0175
CJ-ABA-079	0.23	3.63	3.83	3.90	1.0088
CJ-ABA-080	0.48	3.37	5.89	2.54	1.0007
CJ-ABA-081	0.14	3.60	6.38	3.82	1.0068
CJ-ABA-082	0.14	3.85	6.02	6.10	1.0092
CJ-ABA-083	0.13	3.57	5.53	2.77	1.0049
CJ-ABA-084	0.36	3.15	2.66	4.59	1.0097

Tabla 20.b. Parámetros fisicoquímicos en muestras de chicha de jora del distrito de Tamburco

Código chichería	Acidez (Exp. Ácido Máxico)	pH	grado alcohólico	sólidos totales	Densidad
	%	unidades pH	%	%	kg/L
CJ-TAM-004	0.29	3.55	5.02	3.30	1.0019
CJ-TAM-019	0.35	3.45	4.47	2.78	1.0030
CJ-TAM-024	0.30	3.57	6.41	5.07	1.0106
CJ-TAM-033	0.26	3.82	8.07	6.49	1.0146
CJ-TAM-035	0.34	3.33	8.40	4.38	1.0044
CJ-TAM-036	0.24	3.71	5.73	5.59	1.0083
CJ-TAM-037	0.29	3.64	6.58	3.33	1.0037
CJ-TAM-038	0.34	3.53	7.11	3.21	1.0017
CJ-TAM-039	0.25	3.77	7.50	3.87	1.0030

Continua de Tabla 20.b

Código chichería	Acidez	pH	grado	sólidos	Densidad
	(Exp. Ácido láctico) %	unidades pH	alcohólico %	totales %	kg/L
CJ-TAM-040	0.32	3.59	6.08	5.28	1.0206
CJ-TAM-041	0.29	3.37	4.71	2.43	1.0007
CJ-TAM-042	0.22	3.57	4.59	3.28	1.0062
CJ-TAM-043	0.18	3.70	4.18	2.94	1.0055
CJ-TAM-044	0.07	3.74	1.14	1.12	0.9988
CJ-TAM-045	0.30	3.48	6.64	6.03	1.0139
CJ-TAM-046	0.26	3.84	6.84	3.18	1.0023
CJ-TAM-057	0.14	3.61	2.82	3.34	1.0074
CJ-TAM-058	0.43	3.30	5.71	6.24	1.0171
CJ-TAM-059	0.23	3.24	3.46	3.23	1.0063
CJ-TAM-060	0.18	3.56	5.41	3.16	1.005
CJ-TAM-061	0.17	3.46	4.98	2.29	1.0026
CJ-TAM-062	0.31	3.47	4.37	3.83	1.0080
CJ-TAM-063	0.36	3.43	5.99	3.35	1.0047
CJ-TAM-064	0.38	3.56	7.52	4.84	1.0061
CJ-TAM-065	0.39	3.66	5.81	7.36	1.0202

ANEXO 09:

COMPARACIÓN DE MUESTRAS DE CHICHA DE JORA SEGÚN EL PROCESO DE ELABORACIÓN

Algunas de las muestras en estudio fueron agrupadas (Tabla 21) según semejanzas en el proceso de preparación (elaboración del mosto y fermentación) para obtener información preliminar sobre la relación entre el proceso de elaboración y el contenido de aminas biógenas.

Tabla 21.1. Comparación del contenido de aminas biógenas de las muestras de chicha de jora con similar proceso de elaboración (Proceso 01)

PARÁMETROS DE ELABORACIÓN (Proceso 01)					
Elaboración del mosto			Fermentación		
Proporción Jora: Agua	Tiempo de cocción	Etapas de cocción	Material para la fermentación	Producto para la fermentación	Tiempo de fermentación
más de 100 L	menor a 1 hora	1	recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día

CONCENTRACIÓN DE AMINAS BIOGENAS (Proceso 01)

Nº	Chichería	Histamina	Tiramina
1	CJ-ABA-001	< 1.56 mg/L	7.73 mg/L
2	CJ-ABA-003	1.78 mg/L	< 1.56 mg/L
3	CJ-ABA-016	< 1.56 mg/L	9.68 mg/L
4	CJ-ABA-026	< 1.56 mg/L	2.72 mg/L

Tabla 21.2. Comparación del contenido de aminas biógenas de las muestras de chicha de jora con similar proceso de elaboración (Proceso 02)

PARÁMETROS DE ELABORACIÓN (Proceso 02)					
Elaboración del mosto			Fermentación		
Proporción Jora: Agua	Tiempo de cocción	Etapas de cocción	Material para la fermentación	Producto para la fermentación	Tiempo de fermentación
más de 100 L	Entre 1 y 3 horas	2	Vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día

CONCENTRACIÓN DE AMINAS BIOGENAS (Proceso 02)

Nº	Chichería	Histamina	Tiramina
1	CJ-ABA-028	2.06 mg/L	36.17 mg/L
2	CJ-ABA-033	2.25 mg/L	10.47 mg/L
3	CJ-ABA-051	< 1.56 mg/L	7.49 mg/L
4	CJ-TAM-019	< 1.56 mg/L	11.63 mg/L

Tabla 21.3. Comparación del contenido de aminas biógenas de las muestras de chicha de jora con similar proceso de elaboración (Proceso 03)

PARÁMETROS DE ELABORACIÓN (Proceso 03)

Elaboración del mosto			Fermentación		
Proporción Jora: Agua	Tiempo de cocción	Etapas de cocción	Material para la fermentación	Producto para la fermentación	Tiempo de fermentación
más de 100 L	Menor a 1 hora	2	Vasijas de barro	Chicha madura	menor a 1 día

CONCENTRACIÓN DE AMINAS BIOGENAS (Proceso 03)

Nº	Chichería	Histamina	Tiramina
1	CJ-ABA-055	< 1.56 mg/L	2.80 mg/L
2	CJ-ABA-056	< 1.56 mg/L	16.48 mg/L
3	CJ-TAM-024	< 1.56 mg/L	7.22 mg/L

Tabla 21.4. Comparación del contenido de aminas biógenas de las muestras de chicha de jora con similar proceso de elaboración (Proceso 04)

PARÁMETROS DE ELABORACIÓN (Proceso 04)					
Elaboración del mosto			Fermentación		
Proporción Jora: Agua	Tiempo de cocción	Etapas de cocción	Material para la fermentación	Producto para la fermentación	Tiempo de fermentación
31 a 70 L	Entre 1 y 3 horas	2	Recipiente de plástico	Chicha madura	menor a 1 día

CONCENTRACIÓN DE AMINAS BIOGENAS (Proceso 04)

N°	Chichería	Histamina	Tiramina
1	CJ-ABA-047	< 1.56 mg/L	13.29 mg/L
2	CJ-ABA-049	< 1.56 mg/L	7.83 mg/L
3	CJ-ABA-050	< 1.56 mg/L	19.45 mg/L

A continuación se presentan gráficamente los resultados correspondientes a la concentración de histamina y tiramina de acuerdo al proceso de elaboración.

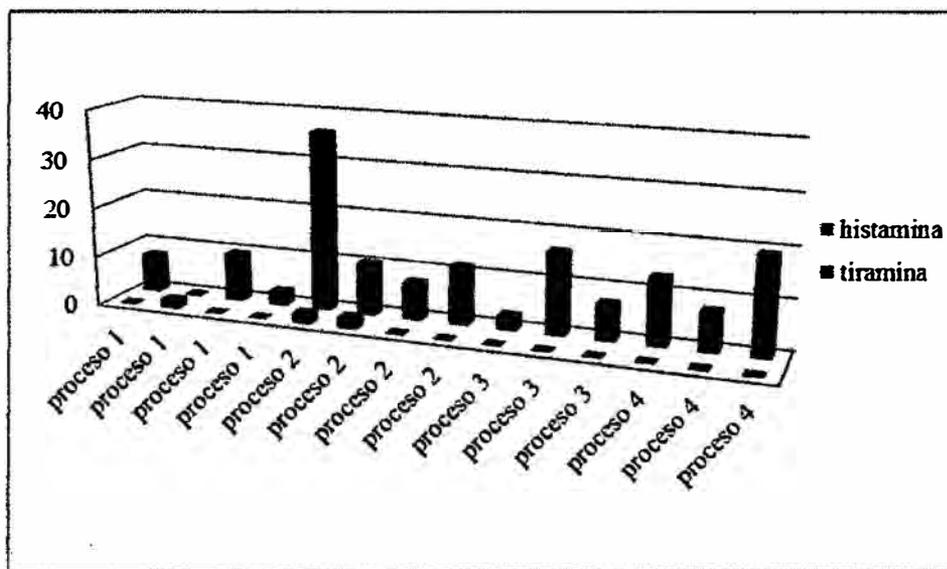


Figura 22. Concentración de Tiramina e Histamina en muestras de Chicha de jora comparada por el proceso de elaboración

Al agrupar los datos acorde al proceso de elaboración, se observó que los resultados presentan diferencias estadísticamente significativas a pesar de haber seguido un proceso de elaboración similar. Estas variaciones pueden ser atribuidas a las condiciones previas a la elaboración del mosto (germinación, secado, etc.), así como a la calidad y variedad de maíz incluida la de otras materias primas utilizadas. Es también factor importante las condiciones ambientales en el periodo de fermentación (Manrique, 1979). Otro aspecto a considerar es la fermentación espontánea de la chicha de jora, debido a que genera poca estabilidad, expuesta a una serie de defectos originados por la variada flora microbiana que se encuentra presente (Manrique, 1979).

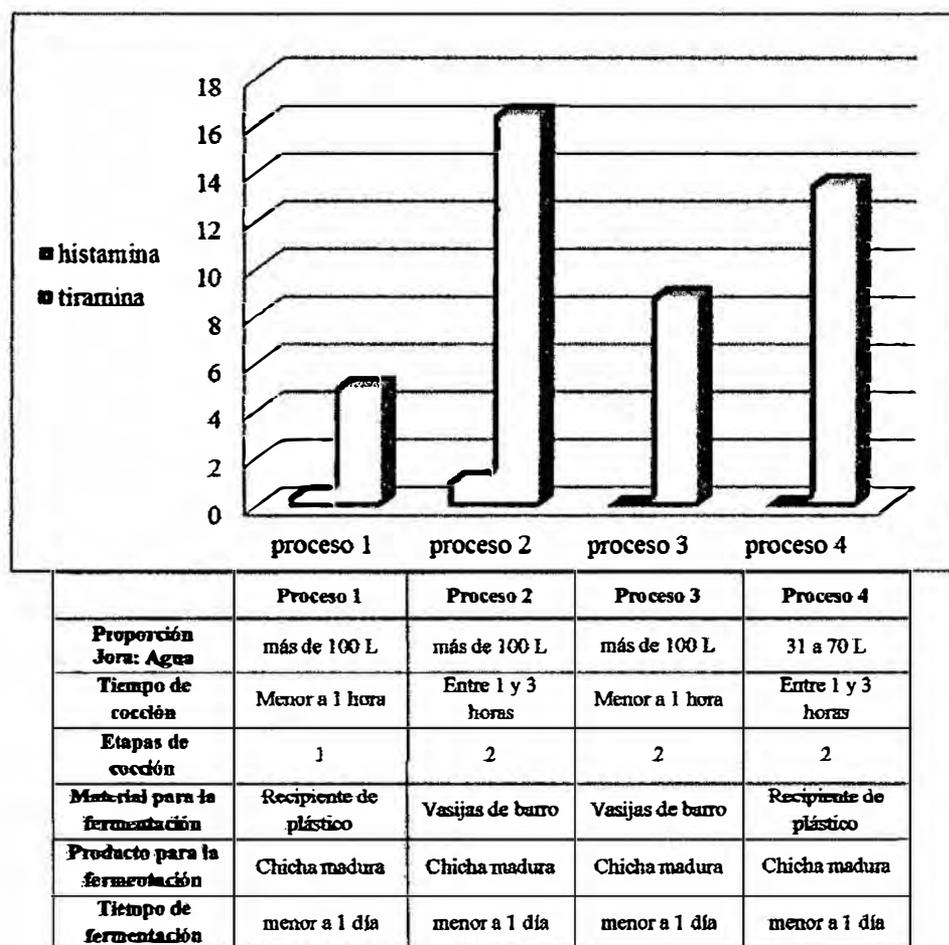


Figura 23. Concentración promedio de Tiramina e Histamina en muestras de Chicha de jora comparada por el proceso de elaboración

Acorde a estos últimos resultados, en el *Proceso 2* se visualizó que una de las muestras superó los límites permisibles para tiramina, mientras el resto de resultados, incluidos los de otros procesos, presentaron concentraciones dentro de los límites permisibles tanto para histamina como tiramina. El *Proceso 1*, obtuvo los resultados más bajos para el contenido de histamina y tiramina, destacando en este proceso el uso de recipientes de plástico para la fermentación, siendo este recipiente considerado como higiénico para la industria alimentaria (Reglamento de Vigilancia y Control Sanitario de Alimentos y Bebidas, 1998). Si bien, en el *Proceso 4* también se utilizó recipientes de plástico para la fermentación, el contenido de tiramina fue mayor en comparación del *Proceso 1*, destacando en esta etapa un mayor tiempo de cocción. Para esta situación, se debe mencionar que durante la cocción el objetivo principal es la extracción de los compuestos solubles de la jora, y se ha establecido como tiempo óptimo 60 minutos para la chicha de jora (De Florio, 1985); pero adicionalmente, y en beneficio a la disponibilidad de nutrientes y optimización de condiciones para los organismos fermentadores y posibles productores de aminas biógenas, en la cocción se logra la destrucción de los enzimas de la malta, esterilización del mosto, eliminación de los compuestos volátiles indeseables, formación de los compuestos responsables del aroma, del sabor y del color mediante la reacción de Maillard (Varman *et al.*, 1994, citado por Pacheco, 2010), coagulación y precipitación de las proteínas y otros compuestos (De Florio, 1985), siendo estos favorecidos con un mayor tiempo de cocción que llega hasta los 90 minutos para el caso de la elaboración de cervezas (Hough, s.f.).

En vista a las variaciones obtenidas y haciendo una comparación, en la industria cervecera la tecnología tradicional incluye la no regeneración de levaduras y la limpieza deficiente de los tanques de fermentación, que se ve reflejado en un mayor contenido de aminas biógenas (Romero *et al.*, 2003); pero se debe tener en cuenta que esta variación también puede ser atribuida a cualquier contaminación microbiana que pueda haber ocurrido durante el proceso de elaboración o el de

almacenamiento (Kalac y Krizek, 2003), en comparación de aquellas muestras que no presentaron concentraciones considerables de aminas biógenas.

Por otro lado, en promedio, el *Proceso 2* presentó las mayores concentraciones de histamina y tiramina en comparación con los otros procesos, y en este proceso destaca el uso de vasijas de barro para la fermentación y una cocción de entre 1 y 3 horas.

ANEXO 10:

PROPORCIÓN TIRAMINA/ HISTAMINA EN LAS MUESTRAS DE CHICHA DE JORA

Con la finalidad de encontrar alguna proporción constante entre la Tiramina y la Histamina, tal como el encontrado en un trabajo de investigación de cervezas de fermentación espontánea (Loret *et al.*, s.f.). Se calcularon las proporciones de Tiramina/ Histamina de aquellas muestras de chicha de jora que presentaron concentraciones diferentes y mayores al límite de cuantificación del método. En la Figura 24 se muestra porcentualmente las relaciones encontradas entre tiramina e histamina.

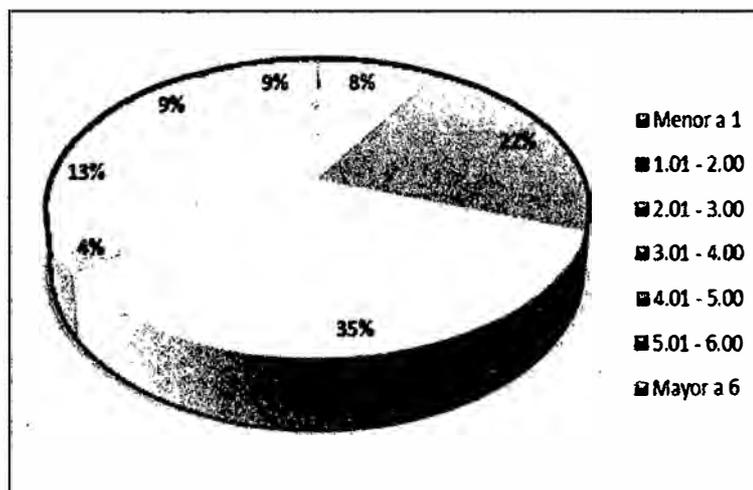


Figura 24. Proporción Tiramina/ Histamina en las muestras de chicha de jora

Análisis figura 24: acorde a los resultados obtenidos, y considerando los datos más representativos, se presenta que el 35% de proporciones calculadas arrojaron valores de entre 2.01 y 3.00; y el 22% valores de entre 1.01 y 2.00. Datos diferentes en comparación con los reportados por Loret *et al.* (s.f.), quien independientemente de la concentración final de ambas aminas vasoactivas, reportó una proporción constante de Tiramina/ Histamina igual a 1.51, a excepción de 2 cervecerías en estudio. Este mismo autor refiere que estos resultados pueden ser indicativos de la presencia de un microorganismo con capacidad descarboxilante para ambas aminas biógenas en las muestras analizadas y en las proporciones mostradas.

**ANEXO 11:
FOTOGRAFÍAS RELACIONADAS AL ANÁLISIS DE AMINAS BIÓGENAS**

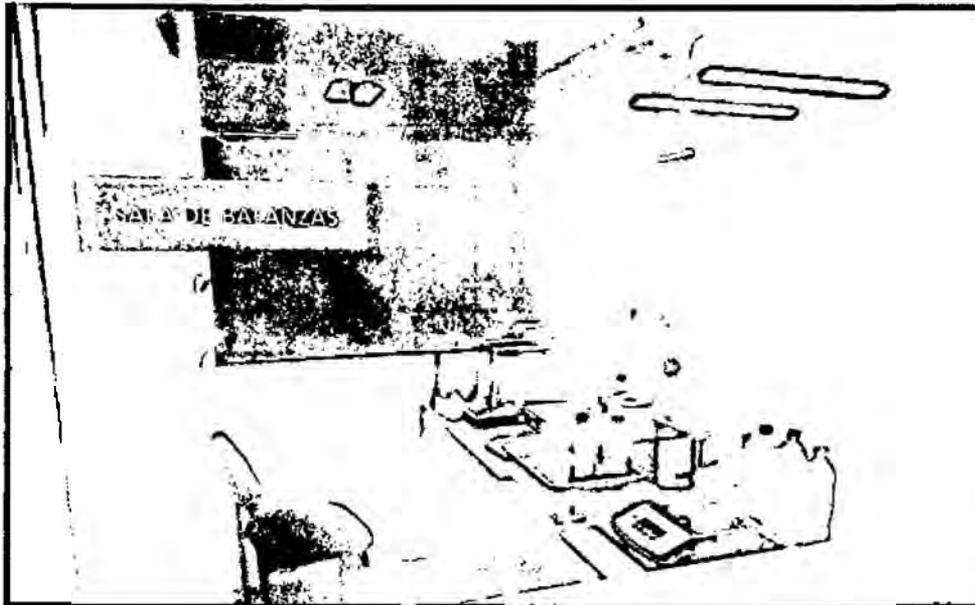


Figura 25: Sala de balanza para el pesado de las muestras de chicha de jora

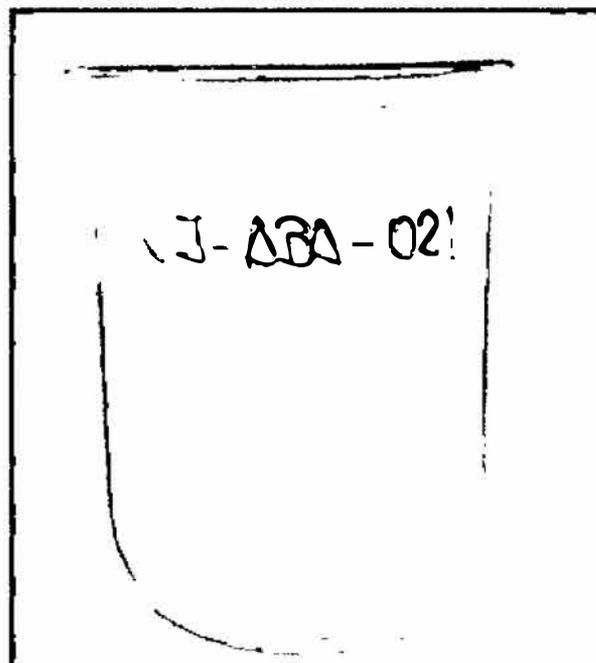


Figura 26: muestra de chicha de jora

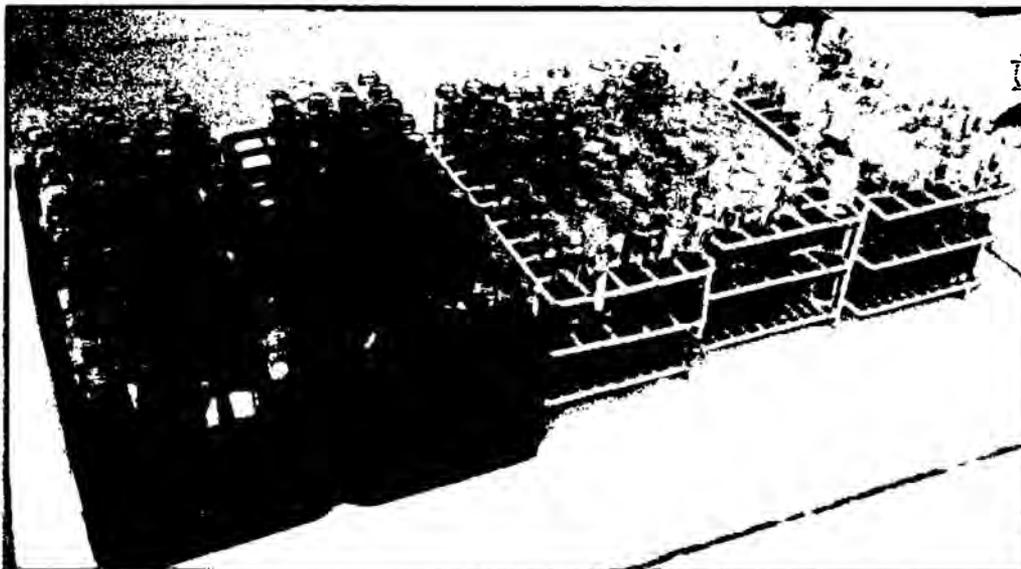


Figura 27: Extractos de chicha de jora listas para el análisis de aminas biogenas

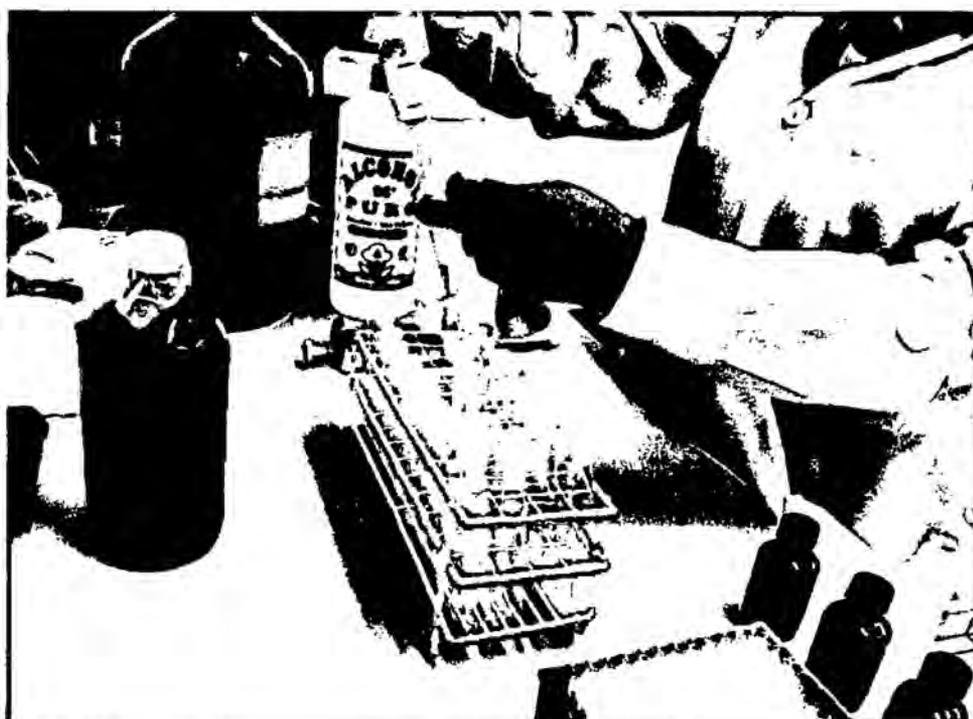


Figura 28: Derivatizacion de las muestras con cloruro de dansilo

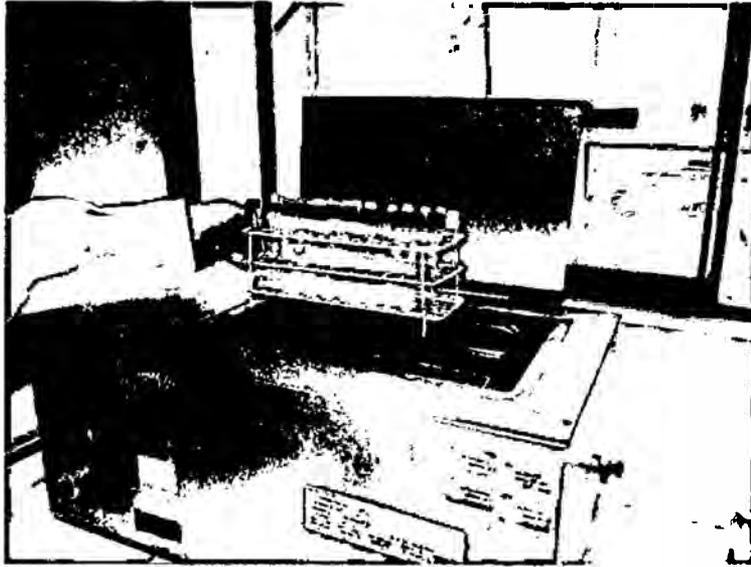


Figura 29: Incubacion de las muestras derivatizadas

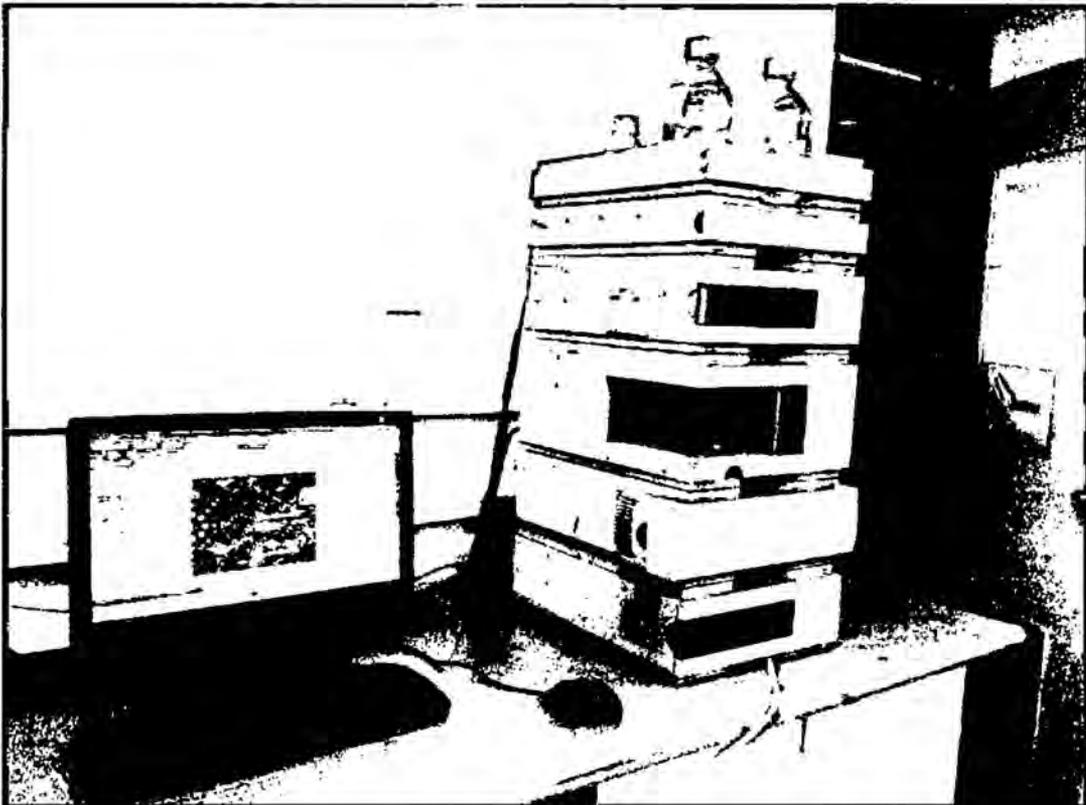
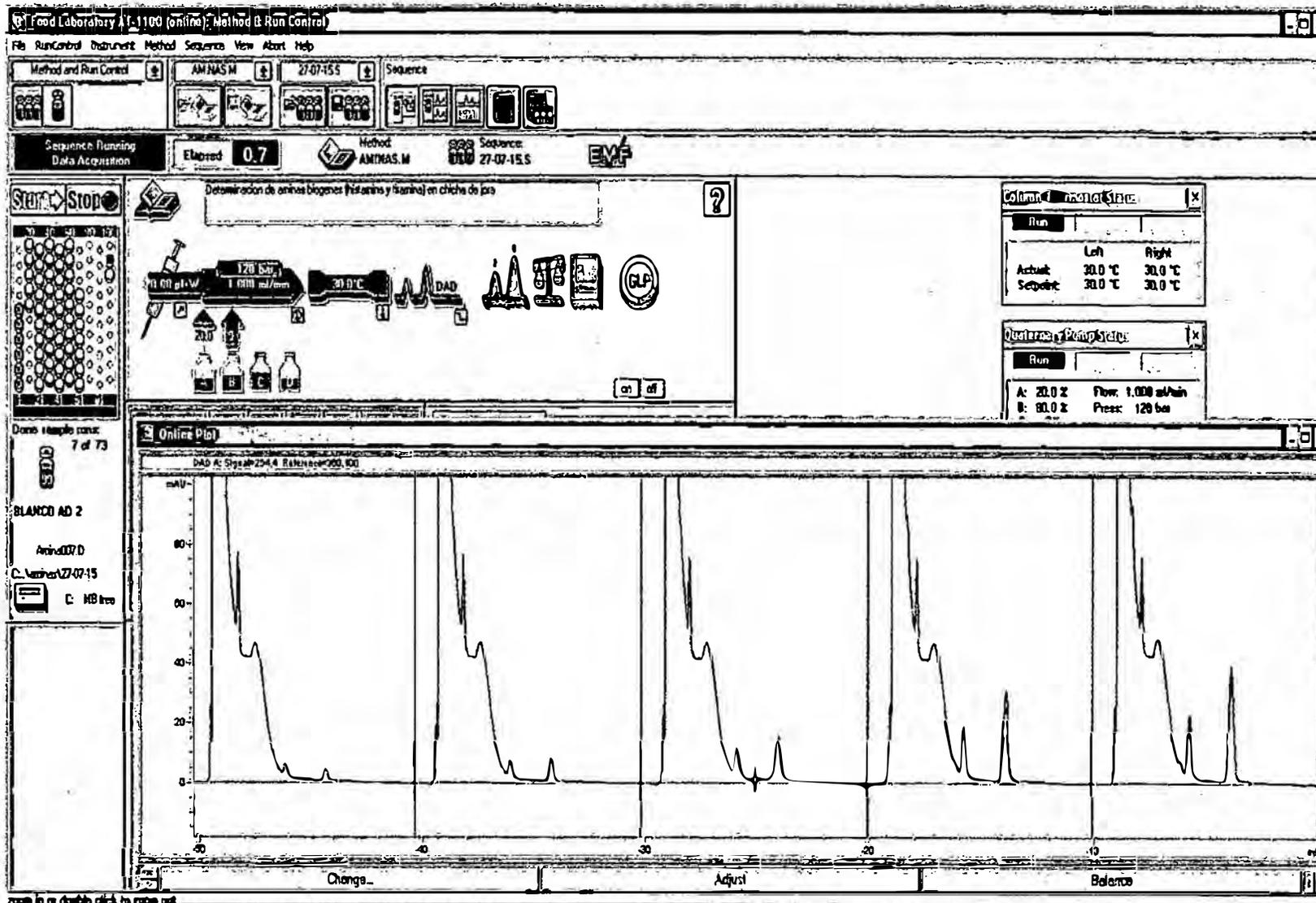


Figura 30: Equipo HPLC utilizado para el analisis de aminas biogenas en chicha de jora



**ANEXO 12:
EVALUACIÓN ESTADÍSTICA ADICIONAL PARA LOS RESULTADOS DE AMINAS
BIÓGENAS**

Esta evaluación estadística adicional se preparó con la finalidad de determinar similitudes del contenido de aminas biógenas entre las muestras en estudio. Esta información permite observar el número de muestras que están estadísticamente cercanas a los valores límites permisibles y nos muestra la variabilidad que se reportó del contenido de histamina y tiramina en los distritos de Abancay y Tamburco

Tabla 22. ANOVA DE UN FACTOR (Histamina vs Chicha de jora)/ Distrito de Abancay

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	P
	GL	SC	CM		
Chicha de Jora	14	746.8014	53.3430	1141.14	0.000
Error	25	0.7012	0.0467		
Total	29	747.5026			

En vista que el Nivel de significancia obtenido (Valor $P = 0.000$) es menor al nivel de significancia propuesto para la investigación (0.05), se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las concentración de Histamina para las muestras de chicha de jora del distrito de Abancay son estadísticamente diferentes. Por lo tanto se sabe que al menos una de las muestras de chicha de jora es diferente con respecto a las otras.

Con la finalidad de conocer las diferencias en la concentración de histamina de las muestras de chicha de jora en estudio, se aplicó la Prueba Tukey obteniendo 8 grupos que presentaban diferencia significativa entre ellos, tal como se muestra en la Tabla 23.

Tabla 23. Prueba Tukey al 95% de confianza para la concentración de Histamina de las muestras de chicha de jora del distrito de Abancay

CHICHERIA	HISTAMINA (mg/L)	AGRUPACIÓN*							
		A	B	C	D	E	F	G	H
CJ-ABA-042	16.994	A							
CJ-ABA-015	16.755	A							
CJ-ABA-025	9.430		B						
CJ-ABA-067	9.032		B						
Limite Permisible	8.000			C					
CJ-ABA-020	6.972				D				
CJ-ABA-048	5.623					E			
CJ-ABA-063	3.589						F		
CJ-ABA-043	2.815						F	G	
CJ-ABA-033	2.252							G	H
CJ-ABA-061	2.137							G	H
CJ-ABA-078	2.084							G	H
CJ-ABA-028	2.064							G	H
CJ-ABA-062	1.832								H
CJ-ABA-003	1.780								H

* Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Tabla 24. ANOVA DE UN FACTOR (Histamina vs Chicha de jora)/ Distrito de Tamburco

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	P
	GL	SC	CM		
Chicha de Jora	10	2233.551	223.355	709.33	0.000
Error	11	3.464	0.315		
Total	21	2237.015			

En vista que el Nivel de significancia obtenido (Valor P = 0.000) es menor al nivel de significancia propuesto para la investigación (0.05), se acepta la hipótesis alterna, concluyendo

que las concentración de Histamina para las muestras de chicha de jora del distrito de Tamburco son estadísticamente diferentes. Por lo tanto se sabe que al menos una de las muestras de chicha de jora es diferente con respecto a las otras.

Con la finalidad de conocer las diferencias en la concentración de histamina de las muestras de chicha de jora en estudio, se aplicó la Prueba Tukey obteniendo 8 grupos que presentaban diferencia significativa entre ellos, tal como se muestra en la Tabla 25.

Tabla 25. Prueba Tukey al 95% de confianza para la concentración de Histamina de las muestras de chicha de jora del distrito de Tamburco

CHICHERIA	HISTAMINA (mg/L)	AGRUPACIÓN*							
		A	B	C	D	E	F	G	H
CJ-TAM-065	37.529	A							
CJ-TAM-004	19.417		B						
CJ-TAM-062	11.828			C					
CJ-TAM-063	9.602				D				
Limite Permisible	8.000				D	E			
CJ-TAM-042	5.854					E	F		
CJ-TAM-035	4.302						F	G	
CJ-TAM-045	4.087						F	G	
CJ-TAM-057	2.650							G	H
CJ-TAM-041	2.515							G	H
CJ-TAM-061	1.715								H

* Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Tabla 26. ANOVA DE UN FACTOR (Tiramina vs Chicha de jora)/ Distrito de Abancay

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	P
	GL	SC	CM		
Chicha de Jora	45	23664.34	525.87	915.66	0.000
Error	46	26.42	0.57		
Total	91	23690.76			

En vista que el Nivel de significancia obtenido (Valor $P = 0.000$) es menor al nivel de significancia propuesto para la investigación (0.05), se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las concentración de Tiramina para las muestras de chicha de jora del distrito de Abancay son estadísticamente diferentes. Por lo tanto se sabe que al menos una de las muestras de chicha de jora es diferente con respecto a las otras.

Con la finalidad de conocer las diferencias en la concentración de Tiramina de las muestras de chicha de jora en estudio, se aplicó la Prueba Tukey obteniendo 22 grupos que presentaban diferencia significativa entre ellos, tal como se muestra en la Tabla 27.

Tabla 27. Prueba Tukey al 95% de confianza para la concentración de Tiramina de las muestras de chicha de jora del distrito de Abancay

CHICHERIA	TIRAMINA (mg/L)	AGRUPACIÓN*																								
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V			
CJ-ABA-046	77.955	A																								
CJ-ABA-076	63.511		B																							
CJ-ABA-066	42.704			C																						
CJ-ABA-020	37.988				D																					
CJ-ABA-028	36.170				D																					
CJ-ABA-042	35.419				D																					
CJ-ABA-072	30.753					E																				
CJ-ABA-052	30.481					E																				
CJ-ABA-006	29.049					E																				
Limite permisible	25.000						F																			
CJ-ABA-025	22.751						F	G																		
CJ-ABA-015	21.079							G	H																	
CJ-ABA-051	19.451								H	I																
CJ-ABA-050	19.451								H	I																
CJ-ABA-067	18.783								H	I																
CJ-ABA-063	17.291									I	J															
CJ-ABA-056	16.483									I	J	K														
CJ-ABA-080	15.523										J	K	L													
CJ-ABA-029	14.057											K	L													
CJ-ABA-047	13.291											K	L	M												
CJ-ABA-034	13.020												L	M												
CJ-ABA-033	10.469													M	N											
CJ-ABA-016	9.677														N	O										
CJ-ABA-049	7.826														N	O	P									
CJ-ABA-001	7.726														N	O	P									
CJ-ABA-068	7.704														N	O	P									
CJ-ABA-061	7.048															O	P	Q								
CJ-ABA-048	6.878															O	P	Q	R							
CJ-ABA-069	6.560															O	P	Q	R	S						
CJ-ABA-043	6.135																P	Q	R	S						
CJ-ABA-053	6.046																P	Q	R	S						
CJ-ABA-079	5.535																P	Q	R	S	T					
CJ-ABA-081	5.458																P	Q	R	S	T					
CJ-ABA-077	5.055																P	Q	R	S	T	U				
CJ-ABA-002	4.463																	Q	R	S	T	U	V			
CJ-ABA-057	4.152																		Q	R	S	T	U	V		
CJ-ABA-083	4.098																			Q	R	S	T	U	V	
CJ-ABA-062	3.795																				R	S	T	U	V	
CJ-ABA-059	3.621																					S	T	U	V	
CJ-ABA-054	3.449																					S	T	U	V	
CJ-ABA-055	2.805																						T	U	V	
CJ-ABA-026	2.724																						T	U	V	
CJ-ABA-070	1.947																							U	V	
CJ-ABA-013	1.912																								U	V
CJ-ABA-003	1.825																									V

* Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes

Tabla 28. ANOVA DE UN FACTOR (Tiramina vs Chicha de jora)/ Distrito de Tamburco

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	P
	GL	SC	CM		
Chicha de Jora	22	14217.42	646.25	440.85	0.000
Error	23	33.72	1.47		
Total	45	14251.13			

En vista que el Nivel de significancia obtenido (Valor $P = 0.000$) es menor al nivel de significancia propuesto para la investigación (0.05), se acepta la hipótesis alterna, concluyendo que las concentraciones de Tiramina para las muestras de chicha de jora del distrito de Tamburco son estadísticamente diferentes. Por lo tanto se sabe que al menos una de las muestras de chicha de jora es diferente con respecto a las otras.

Con la finalidad de conocer las diferencias en la concentración de Tiramina de las muestras de chicha de jora en estudio, se aplicó la Prueba Tukey obteniendo 11 grupos que presentaban diferencia significativa entre ellos, tal como se muestra en la Tabla 29.

Tabla 29. Prueba Tukey al 95% de confianza para la concentración de Tiramina de las muestras de chicha de jora del distrito de Tamburco

CHICHERIA	TIRAMINA (mg/L)	AGRUPACIÓN*										
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
CJ-TAM-065	74.438	A										
CJ-TAM-004	50.712		B									
CJ-TAM-046	49.298		B									
CJ-TAM-064	35.127			C								
CJ-TAM-058	25.304				D							
Limite permisible	25.000				D							
CJ-TAM-039	20.391				D	E						
CJ-TAM-038	18.644					E						
CJ-TAM-045	17.410					E	F					
CJ-TAM-063	12.812						F	G				
CJ-TAM-035	11.851							G	H			
CJ-TAM-019	11.634							G	H			
CJ-TAM-060	11.463							G	H	I		
CJ-TAM-040	9.435							G	H	I		
CJ-TAM-061	8.816							G	H	I	J	
CJ-TAM-036	8.647							G	H	I	J	
CJ-TAM-062	7.632								H	I	J	
CJ-TAM-041	7.544								H	I	J	
CJ-TAM-024	7.223								H	I	J	
CJ-TAM-042	6.557									I	J	K
CJ-TAM-033	4.255										J	K
CJ-TAM-037	4.199										J	K
CJ-TAM-057	2.277											K

* Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANEXO 13

Tabla 30. Relación de parámetros fisicoquímicos adicionales

Variables	Coefficiente de correlación (r)	Ecuación	%Confianza del modelo matemático (R ²)
Densidad - %Sólidos totales	0.930	Densidad = 0.992 + 0.00393(%Sólidos totales)	86.3%
%Acidez – pH	-0.445	%Acidez = 1.03 – 0.218(pH)	18.8%