

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**Capacidad probiótica de los microorganismos en
la chicha de *Schinus molle* “molle”**

Tesis para optar el título profesional de
Bióloga, Especialidad: Microbiología

Presentado por:

Bach. Jessuly Minorka Alagon Quispe

Asesora:

Mg. Paula García Godos Alcázar

Ayacucho - Perú

2024

Con todo mi amor a mi familia: a mis padres y hermanos que son mi motivación a seguir; y agradecer de manera especial a mi tía Susan por su apoyo y afecto incondicional.

Con cariño y gratitud a mi compañero de vida que me ha acompañado en este gran paso profesional.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por ser mi alma máter en el proceso de mi formación personal y profesional.

A la Escuela Profesional de Biología y docentes en las áreas básicas que nos dirigieron al comienzo y desarrollo de esta profesión.

A su plana docente de la especialidad de Microbiología por su dedicación y enseñanzas para ser buenos profesionales contribuyendo al progreso de nuestra nación.

A los docentes de la especialidad de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas por permitirme usar los laboratorios, los equipos y materiales para poder desarrollar esta investigación.

A mi asesora Mg. Paula García Godos Alcázar por su tiempo y apoyo en todo momento fueron fundamentales al inicio y fin para esta investigación.

También quiero agradecer a mis compañeras de tesis por su apoyo incondicional y moral en la realización de esta investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xvii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Microbiología de la chicha de <i>Schinus molle</i> “molle”	5
2.3. Microorganismos probióticos	6
2.3.1. Bacterias lácticas	6
2.3.2. Levaduras probióticas	8
2.4. Probióticos	11
2.4.1. Criterios de selección de los probióticos	11
2.4.2. Mecanismos de acción de los probióticos	11
2.5. Capacidad probiótica	12
2.6. <i>Schinus molle</i> “molle”	12
2.6.1. Clasificación taxonómica	12
2.6.2. Nombre común	12
2.6.3. Distribución	13
2.6.4. Descripción	13
2.6.5. Materia prima para la chicha de “molle”	13
2.6.6. Composición química	13
2.6.7. Aplicaciones y características beneficiosas de la chicha de molle	13
2.6.8. Elaboración tradicional de la chicha de molle	14
III. MATERIALES Y METODOS	15
3.1. Lugar de ejecución	15
3.2. Obtención de muestras	15
3.3. Metodología experimental	15
3.3.1. Aislamiento de microorganismos	15
3.3.2. Identificación de los microorganismos de la chicha de molle	16

3.3.3. Evaluación de la capacidad probiótica de los microorganismos de la chicha de molle	20
3.4. Análisis estadístico	21
IV. RESULTADOS	23
V. DISCUSIÓN	29
VI. CONCLUSIONES	45
VII. RECOMENDACIONES	47
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
ANEXOS	55

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Muestreo de cepas aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	25
Tabla 2. Especies de microorganismos aislados de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	26
Tabla 3. Características morfológicas de las colonias de bacterias lácticas aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	27
Tabla 4. Características microscópicas de bacterias lácticas aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	28
Tabla 5. Identificación de bacterias lácticas aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	29
Tabla 6. Características morfológicas de las colonias de levaduras aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	30
Tabla 7. Características morfológicas de levaduras aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	31
Tabla 8. Identificación de levaduras aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	32
Tabla 9. Capacidad probiótica de bacterias lácticas aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	33
Tabla 10. Capacidad probiótica de levaduras aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	34
Tabla 11. Cepas aisladas con capacidad probiótica de los microorganismos a partir de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	35

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Capacidad probiótica de cepas aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	36
Figura 2. Porcentaje de bacterias lácticas y capacidad probiótica de cepas aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	37
Figura 3. Porcentaje de levaduras y capacidad probiótica de cepas aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	38

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Fotografías de la morfología de las colonias y observaciones microscópicas de <i>Leuconostoc</i> y <i>Lactobacillus</i> a partir de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	57
Anexo 2. Perfil de fermentación de carbohidratos de <i>Leuconostoc mesenteroides</i> aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	58
Anexo 3. Perfil de fermentación de carbohidratos de <i>Leuconostoc lactis</i> aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	58
Anexo 4. Perfil de fermentación de carbohidratos de <i>Lactobacillus plantarum</i> aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	59
Anexo 5. Prueba de catalasa negativo para las cepas de <i>Leuconostoc</i> y <i>Lactobacillus</i> aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	59
Anexo 6. Fotografías de la morfología de las colonias y observaciones microscópicas de <i>Saccharomyces</i> aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	60
Anexo 7. Fotografías de la morfología de las colonias y observaciones microscópicas de <i>Galactomyces candidum</i> aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	61
Anexo 8. Ascas con esporas de las colonias típicas del género <i>Saccharomyces</i> y <i>Galactomyces</i> .	61
Anexo 9. Formación de filamentos (pseudohifas) en las cepas del género de <i>Saccharomyces</i> (<i>Saccharomyces chodati</i> , <i>Saccharomyces kluyveri</i> y <i>Saccharomyces heterogenicus</i>).	62
Anexo 10. Formación de filamentos (hifas septadas) típico de la especie <i>Galactomyces candidum</i> .	62
Anexo 11. Perfil de fermentación de carbohidratos de <i>Saccharomyces chodati</i> aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022	63

Anexo 12. Perfil de fermentación de carbohidratos de <i>Saccharomyces odessa</i> aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	63
Anexo 13. Perfil de fermentación de carbohidratos de <i>Saccharomyces kluyveri</i> aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	64
Anexo 14. Perfil de fermentación de carbohidratos de <i>Saccharomyces heterogenicus</i> aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	64
Anexo 15. Perfil de fermentación de carbohidratos de <i>Galactomyces candidum</i> aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	65
Anexo 16. Prueba bioquímica de hidrólisis de la urea negativo para las cepas de <i>Saccharomyces odessa</i> , <i>Saccharomyces kluyveri</i> , <i>Saccharomyces chodati</i> , <i>Saccharomyces heterogenicus</i> y positivo para las cepas de <i>Galactomyces candidum</i> .	65
Anexo 17. Identificación bioquímica de bacterias lácticas aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	66
Anexo 18. Característica clave de los <i>Leuconostoc</i> del grupo Homofermentativo.	68
Anexo 19. Características clave de los <i>Lactobacillus</i> del grupo Heterofermentativo.	69
Anexo 20. Identificación bioquímica de levaduras aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	70
Anexo 21. Característica clave de los <i>Saccharomyces</i>	71
Anexo 22. Característica clave del género <i>Galactomyces</i> .	72
Anexo 23. Identificación de bacterias lácticas y levaduras de los lugares de procedencia de chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.	73
Anexo 24. Comportamiento del caldo <i>Lactobacilli</i> a pH ácido 1.0, 1.5 y 2.0 de cepas de bacterias lácticas aisladas de la chicha de molle y control sin inóculo.	74
Anexo 25. Comportamiento del jugo gástrico artificial a pH 2 a 3 y control con inóculo a pH 6.5 a 7 de cepas de bacterias lácticas aisladas de la chicha de molle y control sin inóculo.	74

Anexo 26. Comportamiento de caldo Lactobacilli con bilis al 0.05, 0.1, 0.15, y 0.3 % de cepas de bacterias lácticas aisladas de la chicha de molle y control sin inóculo.	75
Anexo 27. Comportamiento de caldo Lactobacilli a pH 6.5 a diferentes temperaturas (28, 37 y 50 °C) de cepas de bacterias lácticas de la chicha de molle y control sin inóculo.	75
Anexo 28. Comportamiento del caldo Sabouraud a pH ácido 1.0, 1.5 y 2.0 de cepas de levaduras aisladas de la chicha de molle y control sin inóculo.	76
Anexo 29. Comportamiento del jugo gástrico artificial a pH 2 a 3 y control con inóculo con pH 6.5 a 7 de cepas de levaduras aisladas de la chicha de molle y control sin inóculo.	76
Anexo 30. Comportamiento del caldo Sabouraud con bilis al 0.05, 0.1, 0.15 y 0.3 % de cepas levaduras aisladas de la chicha de molle y control sin inóculo.	77
Anexo 31. Comportamiento de caldo Sabouraud con pH 6.5 a diferentes temperaturas (28, 37 y 50 °C) de cepas levaduras de la chicha de molle y control sin inóculo.	77
Anexo 32. Flujograma de investigación	78
Anexo 33. Composición de medios empleados.	79
Anexo 34. Matriz de consistencia	80

RESUMEN

En la investigación se planteó como objetivo evaluar la capacidad probiótica de los microorganismos en chichas de molle elaboradas artesanalmente en la provincia de Huamanga. Para ello se aisló los microorganismos en agar Lactobacilli para bacterias lácticas y agar Sabouraud para levaduras mediante la siembra por incorporación y se incubaron a 37 y 28 °C por 24 horas respectivamente hasta obtener cepas puras. Para su identificación se realizó evaluaciones macroscópicas, microscópicas, pruebas bioquímicas para bacterias lácticas (fermentación de carbohidratos) y levaduras (fermentación de carbohidratos, formación de pseudomicelio y ascaesporas, hidrólisis de la urea). Se identificó bacterias lácticas y levaduras como *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces chodati*, *Saccharomyces odessa*, *Saccharomyces kluyveri*, *Saccharomyces heterogenicus* y *Galactomyces candidum*. En la evaluación de la capacidad probiótica a diferente pH, extractos gástricos, sales biliares y crecimiento a temperaturas de 28, 37 y 50 °C; resultando el 17 % de *Leuconostoc mesenteroides*, 13 % de *Saccharomyces heterogenicus*, 10 % de *Lactobacillus plantarum*, 8 % de *Saccharomyces kluyveri* y 7 % de *Leuconostoc lactis* presentan capacidad probiótica y las demás cepas solo son probióticas como *Saccharomyces odessa*, *Saccharomyces chodati* y *Galactomyces candidum* que presentan tolerancia en algunas condiciones gastrointestinales. En la chicha de molle existen microorganismos con capacidad probiótica, lo que al consumirlas favorecen a la microbiota intestinal, además se debe difundir y expandir su producción.

Palabras clave: Bacterias lácticas, levaduras, capacidad probiótica.

I. INTRODUCCIÓN

Vivimos en una sociedad que está en constante desarrollo tecnológico, lo que involucra cambios que influyen en el estilo de vida del hombre, sobre todo en sus hábitos alimenticios con el incremento del consumo de alimentos procesados; lo que conlleva a que la salud esté enfrentándose a las diferentes patologías relacionadas con mala alimentación o falta de nutrientes. Sin embargo, el uso de los alimentos funcionales (naturales o agregados) cumplen con las características de proveernos nutrientes, prevenir y darnos protección frente a los patógenos (Illanes, 2015).

Los probióticos del tipo tradicional han sido reconocidos por sus propiedades nutritivas y además por la función que realizan los microorganismos vivos en los alimentos de estimular la digestión y ayudar el equilibrio de la microbiota intestinal, teniendo en cuenta la capacidad probiótica como uno de los criterios de selección que un probiótico debe obtener (Pacheco et al., 2023). En el mercado de alimentos funcionales está incrementando la demanda de consumidores, quienes optan por productos para la salud gastrointestinal, especialmente productos probióticos y prebióticos que ahora son ampliamente investigados en la actualidad, incluyendo cereales, productos cárnicos, pastas y bebidas fermentadas a partir de jugo de frutas que son sustratos alimentarios que contienen micronutrientes, fibra, antioxidantes, y sirven como fuente de microorganismos benéficos (Bernal et al., 2017).

La producción de bebidas fermentadas tradicionales involucra la fermentación espontánea por microorganismos presentes en la materia prima, su entorno y las condiciones ambientales. El proceso de fermentación por parte de bacterias lácticas y levaduras implica la degradación y transformación de los componentes de los alimentos, generando productos finales con características nutricionales que mejoran la digestibilidad, aumento de vitaminas y minerales, producción de

compuestos bioactivos, preservación de nutrientes, presencia de probióticos y reducción de antinutrientes como el ácido fítico (Alaves et al., 2017). En la investigación realizada por (Cerero et al., 2022), se aislaron cepas del género *Leuconostoc*, *Lactobacillus* y *Enterococcus* con capacidad probiótica de bebidas fermentadas mexicanas del pozol y tuba, para posteriormente otorgarle aplicaciones biomédicas obteniendo buenos resultados por su mecanismo antagonista frente a los patógenos, por otro lado, determinaron que las levaduras están más relacionadas con el proceso de fermentación y la producción industrial cervecera (Siccha, 2021), pero se ha demostrado que también son probióticas como en el caso de la kombucha a base de té negro fermentada (May et al., 2019), en el cual lograron sobrevivir los géneros *Saccharomyces*, *Dekkera* y *Brettanomyces* en condiciones similares a las simuladas en el tracto gastrointestinal, además las levaduras como alternativa probiótica son inmunes a los antibióticos, reduciendo y evitando la resistencia de los mismos debido a sus características estructurales y funcionales (Agarbati, 2020).

En nuestro país multicultural se produce una gran variedad de chichas tradicionales fermentadas, una de ellas es la chicha de molle. Los estudios realizados en las investigaciones de probióticos y la capacidad probiótica, son escasos e insuficientes.

Por ello, en este estudio, se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo general

Evaluar la capacidad probiótica de los microorganismos aislados en la chicha de *Schinus molle* “molle”.

Objetivos específicos

1. Aislar los microorganismos en la chicha de *Schinus molle* “molle”.
2. Identificar los microorganismos probióticos aislados en la chicha de *Schinus molle* “molle”.
3. Determinar la capacidad probiótica de los microorganismos aislados en la chicha de *Schinus molle* “molle”.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

En la investigación de Herrera (2021) se caracterizaron y evaluaron la capacidad probiótica de bacterias lácticas y levaduras involucradas en la fermentación del cacao de uso industrial se aislaron un total de 16 cepas de entre levaduras y bacterias lácticas de los géneros *Saccharomyces*, *Candida*, *Pichia*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium*, se encontraron 2 cepas (*Leuconostoc mesenteroides ssp.* y *Saccharomyces cerevisiae*) con mejores características probióticas frente a la tolerancia al pH, actividad antimicrobiana, viabilidad de almacenamiento y crecimiento a diferentes temperaturas.

A través del estudio de posibles levaduras probióticas obtenidas de alimentos naturales ambientales y procesados espontáneamente de Agarbarti et al. (2020) se aislaron, identificaron por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y se caracterizaron a doce géneros diferentes y 179 especies de levaduras probióticas pertenecientes a *Lanchancea thermotolerans*, *Metschnikowia*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Torulaspota delbrueckii*, que pueden ser propuestas para diferentes aplicaciones y alternativa válida o en combinación con *Saccharomyces var. boulardii*.

En el estudio de Rivera (2018), se identificaron y determinaron con parámetros fisicoquímicos a los microorganismos responsables de la fermentación de la chicha de jora presentando 7 especies de levaduras como: *Candida famata*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida krusei*, *Cryptococcus laurentii*, *Trichosporon mucoides* y *Candida spherica* y 3 especies de *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus paracasei* e identificados por Reaccion en Cadena dela Polimerasa (PCR), con un rango de pH 3.1 a 4.3, etanol de 0.1 a 5.6 % y acidez de 0.2 a 5.1 %, por ende las bacterias lácticas y levaduras son las causantes de proporcionar el aroma, sabor, consistencia y el porcentaje de alcohol en la chicha de jora.

Por su parte en el estudio de Cunha et al. (2018) se aislaron, identificaron y evaluaron la capacidad probiótica de piña fermentada *in vitro* un total de 150 cepas de levaduras (18 cepas de la cáscara y 132 cepas de la pulpa) de las cuales 50 cepas son potenciales probióticas, identificadas por Espectrofotometría de masas de tiempo de vuelo de ionización/desorción asistida por láser (MALDI-TOF MS) y secuenciación, sobreviviendo a pH 2.0, pepsina 3.0g/L y tolerancia a sales biliares (0.1 y 1 % p/v), resistentes a 6 antibióticos, actividad antimicrobiana a 6 bacterias patógenas y solo sobrevivieron 5 cepas a condiciones gastrointestinales y resistencia a antibióticos.

En la evaluación del funcionamiento de cultivos probióticos y prebióticos en bebidas de frutos rojos de Bernal (2017), se evaluó la capacidad probiótica frente a la tolerancia de sales biliares y pH ácido a las cepas de *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactobacillus paracasei* donde este último difiere de las demás seleccionada para poder ser formulada en la bebida de frutos rojos por un medio de inclusión como microorganismo probiótico conteniendo el 35 % p/v de fruta mezclado con el 20 % de fresa, 10 % de mora y adicionado con 5 % de papaya para estabilizar el pH con inulina al 1 % que permitió la viabilidad de la cepa.

Presentando la capacidad probiótica de la levadura *Kluyveromyces marxianus* en pulque *in vitro* e *in vivo* de Mendoza (2013), se evaluó primero la resistencia a concentraciones biliares de 0.05 % a 0.30 %, el pH ácido desde 1.5 hasta 7.0, tolerancia al jugo gástrico por 24 horas, presentando capacidad de establecerse y colonizarse en el intestino de los ratones inhibiendo el crecimiento de *Klebsiella pneumoniae* puede ser considerado como microorganismo probiótico.

En el estudio de Lagos (2017), se aisló, identificó y caracterizó fisiológicamente levaduras fermentadoras de cacao en centros de acopio, se identificaron 16 cepas de levaduras correspondientes a *Candida albicans*, *C. boidinii*, *C. intermedia*, *C. orthopsilosis*, *C. tropicalis*, *Debaromyces hansenii*, *Galactomyces candidum*, *Hanseniaspora opuntiae*, *Kodamae ohmeri*, *Meyerozyma guilliermondii*, *Pichia kudriavzevii*, *Rhodotorula dairenensis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichosporon asahii*, *T. terricola* y *Wickerhamomyces anomalus* por técnicas moleculares por Fragmentos de Restricción de Longitud Polimórfica (RFLPs) y secuenciamiento. En la investigación de Rodríguez y García - Godos (2017), se aislaron, identificaron y evaluaron la capacidad probiótica *in vitro* e *in vivo* de bacterias lácticas en chichas de molle hechas artesanalmente en la provincia de Huanta y

Huamanga de las cuales se aislaron 55 cepas de bacterias ácido lácticas e identificándose con la coloración Gram y pruebas bioquímicas: a *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus maltaromicus* y *Leuconostoc mesenteroides*; también se hizo pruebas de antagonismo con cuatro patógenos (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*), demostrando que las 55 cepas de bacterias lácticas 14 no permiten el crecimiento de estas y como última prueba fue la capacidad de tolerancia a condiciones gastrointestinales a diferentes pH, sales biliares y jugo gastrointestinal y de ellas solo seleccionaron 4 cepas. La capacidad probiótica *in vivo* se aplicó en ratas para después realizar el recuento de bacterias lácticas presentes en el intestino a los 21 días con tratamientos de bacterias lácticas, bacterias ácido lácticas más el yacón en el consumo diario de estas bebidas fermentadas tradicionales incrementa el *Lactobacillus* en la microbiota intestinal. La capacidad probiótica como característica funcional de todo probiótico es la actividad antagonista contra patógenos en la producción de las bacteriocinas por las bacterias lácticas.

A través del estudio de diversidad de levaduras de iniciadores tradicionales de fermentación alcohólica para la elaboración de vino de arroz glutinoso Hong Qu de Lv-Xu et al., (2013), se aislaron e identificaron por la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) - Electroforesis en Gel de Gradiente Desnaturalizante (DGGE) y secuenciación de bandas de ADN de 10 muestras de vino arroz un total de 50 levaduras entre los géneros *Brettanomyces*, *Candida*, *Criptomococcus*, *Debaromyces*, *Dekera*, *Galactomyces*, *Geotrichum*, *Hansenula*, *Hanseniaspora*, *Hyhopichia*, *Issatchenkia*, *Kazachtania*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Torulaspota*, *Torulopsis*, *Trichosporon*, *Yarrowia* y *Zygosaccharomyces*.

2.2. Microbiología de la chicha de *Schinus molle* “molle”

La fermentación es producida por los microorganismos en este caso por las levaduras, mohos, bacterias y en algunos casos podemos encontrar a más de un microorganismo en estas fermentaciones, siendo las bacterias lácticas y levaduras las responsables de la fermentación en la chicha de molle. La fermentación es un proceso catabólico que ocurre en ausencia del oxígeno (anaerobiósis) en donde el receptor final de electrones es un compuesto orgánico. La fermentación en ausencia del oxígeno (anaeróbica) puede llevarse de dos maneras: alcohólica o ácido láctica (Sanlier, 2017).

La fermentación en muchos casos es producida por diferentes microorganismos

como las bacterias ácido lácticas, hongos, levaduras y enterobacterias, que estos degradan los carbohidratos fermentables en moléculas inorgánicas como el anhídrido carbónico, este proceso da como consecuencia una oxidación incompleta en el proceso de la fermentación. La presencia de los microorganismos que realizan la fermentación siendo de forma: naturales o nativos, pero también pueden ser añadidos (Tagmag, et al., 2016).

Las bacterias ácido lácticas comienzan con el proceso sobre todas seguidas por las diferentes especies de levaduras, además de ello producen el ácido láctico que no permiten el crecimiento de los patógenos, consumiéndose el azúcar presente prolongando la vida del alimento o bebida, en tanto las levaduras producen aroma, alcohol y el sabor. Además, se obtiene metabolitos antibacterianos como las bacteriocinas (López, 2015). Dejando de lado a las bacterias lácticas, las levaduras también desempeñan un rol importante en la fermentación e inclusive se puede tener enzimas, saborizantes y así logrando ser parte de las comunidades complejas (Pazmiño, 2013).

En la fermentación de alimentos y bebidas aumenta su vida útil como mejorando sus propiedades organolépticas resultando compuestos como los ácidos orgánicos, etanol y el anhídrido carbónico que controlará el crecimiento de los microorganismos que malogran los alimentos causando la oxidación parcial, obteniendo el alimento potencial y energético para su consumo; así también mejora su digestibilidad de proteínas, carbohidratos, vitaminas, y minerales (Samlier, 2017).

Estos beneficios otorgados por la fermentación están relacionados a los péptidos bioactivos que han sido absorbidos en la proteólisis de proteínas por medio de las bacterias ácido lácticas. Como resultado se obtendrá las propiedades de la chicha como su acidez, textura, aroma y su composición nutricional (Prakash, 2015).

2.3. Microorganismos probióticos

2.3.1. Bacterias lácticas

Son un grupo diverso de microorganismos que son utilizados en la industria para el proceso de fermentación de alimentos como yogurt, carnes, vegetales, quesos embutidos, etc. Como también en la producción de vino, cerveza. En su gran mayoría las bacterias lácticas son probióticas que han sido aisladas en plantas, alimentos, tierra, mamíferos, tracto digestivo, etc. Pertenecen al phylum Firmicutes y se encuentran extensamente distribuidas que conforman más de 500 especies, 40 géneros y 6 familias entre los más representativos esta: *Lactobacillus*,

Lactococcus, *Pediococcus*, *Streptococcus* y *Leuconostoc*. Para su identificación fenotípica de las bacterias lácticas se realizan métodos microscópicos, culturales, fisiológicos, metabólicos y bioquímicos (Bjorkroth et al., 2014).

a) Características morfológicas

Las bacterias lácticas se presentan como bacilos largos o extendidos, aunque también se pueden observar cómo bacilos cortos o cocobacilos, son Gram positivos, catalasa negativa, oxidasa negativa, aerotolerantes o microaerófilo y anaerobios, no esporulados (Vos et al., 2009)

b) Pared celular

Se tiñen de Gram positivas y las células muertas pueden dar resultados variables, compuesta por peptidoglicano (mureinas) además de contener polisacáridos unidos al peptidoglicano mediante enlaces fosfodiéster, presentan ácidos teicoicos en algunas especies (Vos et al., 2009).

c) Características culturales

En los medios de cultivo sólido las colonias son de tamaño pequeño y miden (2-5mm) poseen márgenes enteros, lisos, convexos, brillante, mate sin pigmento, y puede haber casos raros que presenten color amarillo o rojizo debido al carotenoide tripoide que se identificó en el *Lactobacillus plantarum*, también podemos encontrar algunas colonias rugosas, en medios de cultivo líquido las células se asientan poco después de que cese el crecimiento. El sedimento es homogéneo y suave, raras veces viscoso y granuloso. Las bacterias lácticas producen olores característicos donde crecen dependiendo del medio como compuestos volátiles así tenemos en alimentos fermentados el diacetilo, el ácido acético y el acetaldehído que son compuestos derivados del metabolismo de los carbohidratos (Vos et al., 2009).

d) Nutrición y condiciones de crecimiento

Necesitan una serie de nutrientes complejos como los aminoácidos, obtenidos a partir de ácidos nucleicos, sales, péptidos, vitaminas, ácidos grasos y carbohidratos como fuente de carbono y energía. En los medios de cultivo líquido para las bacterias lácticas se suelen suministrar con carbohidratos fermentables peptona, extracto de carne y levadura complementados con jugo de tomate, acetato, manganeso y ésteres del ácido oleico, en particular con la solución tween 80 (Vos et al., 2009). Estas bacterias son capaces de degradar varios tipos de carbohidratos y compuestos relacionados por medio de las rutas metabólicas, generando ATP para el llevado de solutos a través de la membrana celular (Latorre, 2018).

A pesar de que las bacterias lácticas tienen necesidades de nutrición y crecimiento similares, su clasificación es un desafío con los métodos microbiológicos tradicionales. Sin embargo, mediante pruebas moleculares basadas en secuencias de ADN ribosomal se ha logrado identificar de manera más precisa las bacterias aisladas en la que se obtiene mejores resultados (Sánchez y Ochoa, 2018).

e) Condiciones ecológicas

Las bacterias lácticas pueden prosperar en medios con una ligera acidez con un rango de pH inicial 3.2 a 9.6. sin embargo, su óptimo crecimiento se encuentra en el intervalo de pH de 5 a 6. El crecimiento de estas bacterias se detiene cuando el pH desciende a valores entre 3 y 4. Su capacidad para reducir el pH se debe a la producción de ácido láctico y lo que inhibe el crecimiento de otros microorganismos competidores a excepción de otras bacterias lácticas y levaduras. Se clasifican según la temperatura ideal de crecimiento son mesófilas de 20 a 25 °C y termófilas de 40 a 45 °C (Vos et al., 2009).

f) Metabolismo

Las bacterias ácido lácticas poseen diversas características morfológicas y metabólicas (Freire, 2015). Producen ácido láctico por la fermentación de carbohidratos lo que le permite soportar altas concentraciones de sal y tolerar pH ácidos como alcalinos. Se dividen en dos grupos por la fermentación de azúcares las homofermentativas y las heterofermentativas. Las bacterias homofermentativas son aquellas que principalmente generan ácido láctico a partir de la lactosa. Estas bacterias pertenecen a géneros como *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* y algunos *Lactobacillus*. Por otro lado, las bacterias heterofermentativas que forman el segundo grupo, fermentan hexosas y producen cantidades reducidas de ácido láctico, en su lugar, generan niveles más altos de etanol y CO₂ (Prakash, 2015).

2.3.2. Levaduras probióticas

Las levaduras son una población microbiana eucariótica ampliamente distribuidas y muy diversas que albergan a 100 géneros que contiene alrededor de 700 especies (Kurtzman y Fell, 2000).

Se clasifican en tres grupos: ascosporógenas, basidiosporógenas y levaduras imperfectas. Siendo los dos primeros grupos que presentan comportamiento probiótico, destacando los géneros *Saccharomyces*, *Candida*, *Pichia*, *Kluyveromyces*, *Hanseniaspora*, *Zygosaccharomyces*, *Galactomyces*,

Hanseniaspora, *Torulaspota*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus* y *Trichosporum* (Ciani et al., 2015).

Las levaduras han demostrado ser un potencial probiótico al generar compuestos secundarios como ácidos orgánicos, polisacáridos, enzimas (Thuy Ho et al., 2013).

A pesar de su uso en la industria alimenticia han sido poco estudiadas como candidatas potenciales probióticos, *Saccharomyces cerevisiae* ha sido la más empleada en la fermentación industrial y de aceptación comercial, las levaduras como probióticos pueden contribuir de manera beneficiosa a la salud del huésped al estimular el sistema inmunológico, inhibir la producción de toxinas por parte de patógenos, competir con ellos en la adhesión a las células epiteliales, demostrar resistencia a los antibióticos y generar compuestos bioactivos (Di Cagno et al., 2020).

a) Características morfológicas

Son microorganismos microscópicos unicelulares, forman pseudomicelio que son células alargadas dispuestas en forma de cadenas similares al micelio de los hongos, aunque hay especies de levaduras que forman micelio verdadero o ninguno de ellos, se presentan de diversas formas según sus especies como: ovoide, cilíndrica, filamentosas, elípticas, redondas, esféricas, triangulares, encorvadas o elongadas como el género *Saccharomyces*, ojivales como el género *Dekkera* (Kurtzman y Fell, 2000).

b) Características culturales

Las colonias tienen de ancho 2.50 - 10.00 mm y de largo 4.5 - 21.00 mm, podemos observar levaduras pigmentadas rosa, rojo, negro, crema, blanco, amarillo y naranja de consistencia cremosa, semi-seca y seca, lisas, planas o húmedas estas características pueden variar dependiendo del medio de cultivo donde haya crecido el microorganismo además las levaduras de un cultivo puro presentan heterogeneidad morfológica y colorimétrica (Kurtzman y Fell, 2000).

c) Pared celular y cápsula

Es la responsable de dar la forma a la célula, es rígida. Cuando se da la reproducción vegetativa se produce una cicatriz de gemación sobre la célula madre y una cicatriz en el nacimiento sobre la yema. Esta pared está constituida por tres capas, compuesto el 1 % de quitina. La presencia de azúcares o sus derivados en la pared celular ha tenido un gran impacto en la sistemática de levaduras a nivel genérico, como en el género *Schizosaccharomyces* se

caracteriza por la aparición del galactomanano en su pared celular, en otros géneros se compararon con la composición de *Dipodascus* y *Dipodascopsis*, se encontró en el primero el ácido glucurónico y en el otro está ausente. La cápsula se encuentra en algunas levaduras compuesta por fosfomanano soluble al agua (*Hansenula*, *Pichia*), en otros constituidos por mananos más o menos ramificados (*Rhodotorula*), o compuestos por heteropolisacáridos (Criptococcus) (Kurtzman y Fell, 2000).

d) Reproducción

Su reproducción es variada puede presentarse de forma asexual (gemación o clonal) que es la forma más predominante, son células diploides, la célula hija inicia su crecimiento de la formación de una yema en la célula madre, después ocurre la división celular, síntesis de la pared obteniendo como resultado dos células; en este ciclo asexual se forman células diploides como haploides así tenemos a los *Deuteromicetos* de la subdivisión *Deuteromycotina* como el género *Candida*, los tipos de división celular incluyen gemación multilateral, bipolar, y fisión.

En condiciones desfavorables o estrés, casos en las que falte de nitrógeno en su medio la célula diploide se activa esta reproducción sexual en la que pertenecen los Ascomicetos de la subdivisión *Ascomycotina* como el género *Saccharomyces*, la formación de esporas denominándose ascas que por lo general son de uno a cuatro esporas haploides. Las esporas se pueden presentar de dos tipos sexuales (α y β), germinan y crecen vegetativamente hasta encontrar otra célula sexual del tipo opuesto que ocasionalmente podrán conjugarse y producir células diploides y continuar con el ciclo (Kurtzman y Fell, 2000).

e) Nutrición y metabolismo

La mayoría de levaduras no son muy exigentes en cuanto a su nutrición pues son capaces de sintetizar una gran variedad de sustancias esenciales incluidos los carbohidratos, vitaminas y aminoácidos, son mesófilas pueden crecer de 20 a 25 °C, como también hay levaduras que son psicrófilas que crecen de 4 a 15 °C y otras que soportan altas temperaturas en el rango de 30 a 37 °C (Kurtzman y Fell, 2000).

Las levaduras pueden fermentar otro tipo de azúcares como trehalosa, galatosa, α - metil- glucósido, según las especies. Tienen un importante rol en la fermentación en la industria alimentaria como el queso, pan y bebidas alcohólicas. En la chicha de jora, las levaduras aprovechan los carbohidratos como su fuente de energía generando diversos metabolitos que incluyen se etanol, fenoles,

ésteres y ácidos orgánicos, los cuales contribuyen las características sensoriales deseadas. Los géneros principales de levaduras asociadas al proceso de fermentación incluyen *Saccharomyces*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Torulaspota*, *Pichia*, *Galactomyces*, *Deabaryomyces*, *Kluyveromyces* y *Rhodotorula*.

El proceso de fermentación inicia con una gran variedad de levaduras y después presentaran levaduras con un mayor poder de fermentación y resistencia al alcohol (Gibbons, 2015).

2.4. Probióticos

Los probióticos son aquellos microorganismos que han sido seleccionados estrictamente en cantidades adecuadas que al consumirlas tengan propiedades funcionales benéficas al individuo (Rondon et al., 2015).

2.4.1. Criterios de selección de los probióticos

- Tolerar la temperatura interna del hospedero y colonizar el tracto gastrointestinal.
- Resistencia frente al ácido gástrico, la pepsina, bilis y secreciones pancreáticas.
- Modular respuesta inmune.
- Característica de un buen cultivo.
- Adhesión de las células epiteliales.
- No ser patógena.
- Soportar procesos tecnológicos y almacenamiento.
- Producir sustancias antimicrobianas.
- Completa seguridad comprobada.
- Benéfica para la salud (Bernal et al., 2017).

2.4.2. Mecanismos de acción de los probióticos

- Incitar un pH ácido por menor de 4, debido a la producción de ácidos grasos de cadena corta (Agcc), como acetatos, butiratos, etc. Estos Agcc pueden llegar a unas concentraciones que impidan el crecimiento de gérmenes, el pH ácido que permite el crecimiento como las bacterias tolerantes del ácido.
- Restablecer la microbiota normal, potenciando la barrera inmunológica.
- Modulación de la inmunidad intestinal.
- Adherencia en las células enterocíticas y colonocitos e incrementando la barrera inmunológica, ocasionando la competencia con los patógenos.
- Competencia con otros microorganismos e inhibiendo el crecimiento de los patógenos.

- Segregar antibióticos naturales con amplio espectro.
- Aumentar la expresión de las mucinas ileocólicas MUC 2 y MUC 3.
- Ayuda en los controles como del colesterol (Rondon, 2015).

2.5. Capacidad probiótica

Son aquellas bacterias lácticas y levaduras que deben cumplir con los criterios de un probiótico para ser considerados efectivos y beneficiosos para la salud intestinal, además de la capacidad de resistir a las condiciones adversas del sistema digestivo (jugo gástrico y HCl del estómago, las sales biliares), es esencial para poder establecerse y ejerzan sus efectos positivos en el hospedador (Pacheco et al., 2023).

2.6. *Schinus molle* “molle”

Pertenece a la familia de Anacardiáceas, de clima tropical, hay en árboles, arbustos y lianas de amplia distribución (Husz et al., 2016).

Comprende de 860 especies del género *Schinus* y estudiado etnobotánicamente con propiedades medicinales desde las hojas, tallos y frutos. Presenta conductos resíferos típico de esta familia. Se encuentra ampliamente distribuida y ha sido objeto de estudio en América Latina, bajo nombres como *Schinus molle* (aguaribay, molle), *Schinus molle* var. *areira* o *Schinus areira* (aguaribay, molle) y *Schinus terebinthifolius* (pimentero de Brasil) (Pell et al., 2011).

2.6.1. Clasificación taxonómica

Reino	: Plantae
Sub reino	: Traqueobionta
Super división	: Spermatophyta
División	: Mangnolophyta
Clase	: Magnoliopsida
Sub clase	: Rosidas
Orden	: Sapindales
Familia	: Anacardiaceae
Género	: <i>Schinus</i>
Especie	: <i>Schinus molle</i>
Nombre binomial	: <i>Schinus molle</i>

Clasificación según ITIS, 2012

2.6.2. Nombre común

“Molle”, “aguaribay”, “pimiento boliviano”, “aroeira”, “falso pimentero” (USDA, 2018).

2.6.3. Distribución

Su distribución es espontánea que va desde el sur de México hasta el norte de Chile, con un enfoque particular en Perú. Además, los españoles fueron responsables de su introducción en Europa. Se cultiva en parques, resistente a la sequía y altas temperaturas no soporta las heladas, en Europa es más cultivada en Levante y Andalucía (ICRAF, 2012).

2.6.4. Descripción

Llega a medir hasta 15 metros de altura, de diámetro de tronco 0.40m, su corteza es áspera, con amplias ramas. El sistema de raíces se caracteriza por ser axonomorfo y poseer raíces laterales muy largas. El tallo es de forma cilíndrica y consta diferentes tejidos, incluyendo súber, parénquima cortical y tubos resiníferos característicos. El floema secundario es limitado, pero el cambium vascular se mantiene activo. Presenta un abundante floema primario, y la médula es de tamaño reducido. La planta desarrolla una inflorescencia en forma de panícula que es rica en flores unisexuales. Estos órganos reproductores se caracterizan por ser heteroclamídeas, pentámeras, actinomorfas y de tamaño muy reducido.

Las flores estaminadas presentan un cáliz y una corola compuesta por cinco piezas, con 10 estambres y un ovario globoso súpero, unilocular y unilovular. La floración ocurre entre noviembre y diciembre, mientras la fructificación se lleva a cabo en enero y marzo, con la recolección de frutos programada para esos mismos meses (ICRAF, 2012).

2.6.5. Materia prima para la chicha de “molle”

Principalmente, la chicha de molle se elabora a partir del fruto, que es de tipo drupa y tiene un epicarpio rojizo, mesocarpio semicarnoso y dulce, endocarpio pétreo. La alta concentración de azúcar es lo que promueve la fermentación alcohólica por parte de las levaduras (Pagani et al., 2014).

2.6.6. Composición química

Los frutos del molle están compuestos de fructuosa, manosa, glucosa y aceites esenciales. También se encuentra una cantidad de terpenos, sequiterpenos y triterpenoides y fundamentalmente: β - felandreno, α - felandreno, β - pineno, α - pineno, carvacrol, o- etil, fenol, alcanfor, mirceno, limonero, ácido isomasticadienolálico, ácido 3 epi-isomasticadienolálico, flavonoides, piperina (Essabiri et al., 2021).

2.6.7. Aplicaciones y características beneficiosas de la chicha de molle

La chicha de molle tiene usos principales en la medicina como producto

terapéutico aliviando dolencias al hígado aún crónico, infecciones urinarias, estimula la digestión y antiinflamatorio. Y no solo en el fruto de molle se le da el uso medicinal también están en las hojas y flores como cataplasmas calientes para dolores musculares y reumatismo. Y se refuerza más en su potencial medicinal cuando se le añade otras hojas de otras plantas como el eucalipto ayudando en las afecciones bronquiales.

La resina que produce el molle es empleada como almáciga y su corteza posee propiedades medicinales como antiespasmódicas, cicatrizantes, anticaries, y repelente (Pérez et al., 2014).

2.6.8. Elaboración tradicional de la chicha de molle

1. Recolección de frutos secos: se hace la recolección de frutos frescos y maduros, que fructifican entre los meses de enero a marzo que coincide con la temporada de lluvias. Se deja secar en 2 a 3 días. Se pela con el viento. En promedio, los frutos de un molle producen alrededor de tres a cuatro kilos.
2. Hidratación de los frutos maduros: se lleva a cabo utilizando una maqma y agua previamente hervida, en una proporción 1 parte de molle por cada 2 partes de agua en volumen. El agua hervida fría no se hace hervir junto los frutos del molle porque pierde sus propiedades y le da un sabor amargo. La maqma que se utiliza, se dispone de un agujero de drenaje que permite separar el agua de remojo después de un periodo de 2 a 3 días.
3. Separación del mosto: se separa por filtración tiene un color opaco y amarillento. El agua de remojo, conocida como mosto verde se trasvasa y se filtra con el fin de proceder con la fermentación.
4. Fermentación: este mosto es trasvasado en un cántaro que ha servido para los anteriores, previo lavado ligero con agua de caño. Los microorganismos presentes en la superficie de los frutos de molle inician el proceso de fermentación, algunos de ellos se adhieren en las paredes del cántaro. Como se mencionó previamente, los azúcares contenidos en los frutos de molle son fermentados por levaduras, lo que resulta en la producción de etanol. La fermentación completa se lleva a cabo en un periodo de 4 a 5 días, alcanzando su punto máximo de contenido alcohólico después de 7 días, lo que lo convierte en una bebida alcohólica consumida en festividades. Si se prepara con fines comerciales como una bebida refrescante, el proceso de fermentación se acelera, tomando solo un día para completarse (Mujica, 2003).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

La investigación fue realizada en el laboratorio de Biotecnología de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga en los meses de febrero a noviembre del 2022.

3.2. Obtención de muestras

Se muestreó al azar un total de 22 muestras de chicha de molle de tiendas, ferias y mercados donde las expenden, elaboradas en forma artesanal, de los distritos: Tambillo, Ayacucho, Pacaycasa, Carmen Alto, Jesús Nazareno y San Juan Bautista.

3.3. Metodología experimental

3.3.1. Aislamiento de microorganismos

Aislamiento de bacterias lácticas (Rodríguez y García-Godos, 2017)

- Se añadió una alícuota de 1 mL de la chicha de molle y se diluyó en 30 mL de agua peptonada al 0.1 %.
- Luego se tomó 1 mL de la dilución y se sembró por incorporación en el agar Lactobacilli e incubó 37 °C por 24 horas y luego se observó el crecimiento de colonias de bacterias lácticas.
- Finalmente se repicaron las cepas en viales con agar Lactobacilli y conservando en refrigeración para su posterior identificación.

Aislamiento de levaduras (Mujica et al., 2016).

- Se añadió 1 mL de chicha de molle y se diluyó en 30 mL en agua peptonada al 0.1 %.
- Luego se tomó un 1 mL de la última dilución y se sembró por incorporación en agar Sabouraud e incubó a 28 °C por 48 horas y se observó el desarrollo de las colonias características para luego repicar en los ceparios e identificarlos.

Dado los resultados de aislamiento de bacterias y levaduras lácticas se describe en la tabla 1.

3.3.2. Identificación de los microorganismos de la chicha de molle

a) En bacterias lácticas

Características macroscópicas (Rodríguez y García-Godos, 2017; Vos et al., 2009).

- Se inoculó una asada del cultivo aislado en el caldo Lactobacilli e incubó a 37 °C durante 24 horas para luego ser sembradas en agar Lactobacilli por estrías e incubó a 37 °C durante 24 horas.
- Se evaluó las características macroscópicas de las colonias crecidas en el agar Lactobacilli, siendo la forma, borde, color y consistencia.

Características microscópicas (Rodríguez y García 2017; Vos et al., 2009 y Catalina, 2013).

- Se sembró una asada del cultivo aislado en el caldo Lactobacilli e incubó a 37 °C por 18 horas.
- Después con el crecimiento de las colonias se realizó la coloración Gram y se observó al microscopio con un aumento a 1000 X, debiendo ser Gram positivas de forma bacilar y/o cocobacilos.

Pruebas Bioquímicas

Fermentación de carbohidratos (Mac- Faddin, 1990; Vos et al., 2009).

- Se activó las cepas, se inóculo por estrías en 10 mL de agar Lactobacilli inclinado en tubos y se incubó a 37 °C por 18 horas.
- Se preparó 100 mL del medio base de fermentación al que se añadió rojo fenol.
- Se agregaron 4 mL del medio base de fermentación en cada tubo de ensayo que contenía campanas Durham para determinar la producción de gas.
- Se preparó los tubos por cada azúcar empleado, tubos para el control sin inóculo, sin azúcar y tubos para el blanco al que se agregó el inóculo, pero sin azúcar. Los tubos se esterilizaron en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.
- Los azúcares empleados fueron glucosa, arabinosa, celobiosa, fructosa, galactosa, sacarosa, lactosa, rafinosa, maltosa, inulina, manitol, manosa, xilosa, salicilina, ribosa, sorbitol, melibiosa, ramnosa y glicógeno.
- Luego de llevar a cabo la esterilización y enfriamiento de los tubos, se procedió a incorporar los diversos azúcares en cada uno de ellos con el fin de realizar el ensayo de concentración al 1.5 % p/v. Posteriormente, se homogenizó la mezcla y finalmente se añadió 1 mL de la solución de azúcares a cada uno de los tubos que contenían el medio basal de fermentación. Cabe destacar que todo el proceso se llevó a cabo bajo condiciones estériles.

- Para finalizar se agregó 10 mL de agua destilada estéril a las cepas sembradas en agar Lactobacilli y luego se agitó de forma manual con el propósito de liberar las colonias del agar y se incorporó 0.1 mL de la solución a cada uno de los tubos que contenían el medio basal de fermentación.
- Los tubos fueron ligeramente agitados y luego se incubaron a 37 °C durante 2 días. Se realizaron inspecciones de los tubos cada 18 a 24 horas para detectar modificaciones en el color del medio de cultivo y acumulación de gas.
- La interpretación de los resultados se realizó de la siguiente manera:
En el ensayo de fermentación de azúcares, se consideró la presencia de gas en la campana de Durham como una indicación de la capacidad de fermentación del azúcar, mientras que la ausencia de gas en la campana se interpretó como una falta de capacidad para fermentar azúcares.

Para el reporte de resultados se utilizó de los siguientes símbolos:

+ : fuertemente positivo, cambio de color del medio amarillo (ácido) y producción de gas variable: llenado de gas en la campana y/o desplazamiento.

w : débilmente positivo retardado, cambio de color del medio naranja y/o producción de gas variable: llenado de gas en la campana y/o desplazamiento.

- : negativo, sin cambio de color, sin acumulación de gas en la campana.

v : variable en las repeticiones puede ser positiva o negativa.

De acuerdo a los resultados obtenidos de ambos ensayos fueron comparados con la bibliografía en tablas detallado en el anexo 18 y 19.

Prueba de catalasa (Vos et al, 2009; Herrera, 2021).

- Con el asa de siembra se tomó una colonia de 18 a 24 horas colocándolo a un portaobjeto limpio y luego se agregó con la ayuda de una pipeta Pasteur una gota de peróxido al 30 %, sin frotarlo, y se observó la formación de burbujas (positivo) o no (negativo).

b) En levaduras

Características macroscópicas (Kurtzman y Fell,2000; Aranda, 2019).

- Se sembró una asada del cultivo aislado en el caldo Sabouraud y se incubó a 28 °C por 24 horas, para luego ser sembradas en agar Sabouraud a 28 °C por 24 horas.
- Después del crecimiento de las colonias se observó las características macroscópicas, la forma, superficie, color y brillo.

Características microscópicas (Mujica et al., 2016).

- Se realizó la observación directa sin colorante y para la observación de la morfología celular se utilizó azul de metileno; para ello se extrajo una asada a partir de un cultivo joven de (18-24h) y se realizó un frotis utilizando una gota de agua destilada estéril o en el caso de utilizar colorante (azul de metileno), este se añadió con el gotero, luego se colocó el cubreobjetos, eliminando el exceso de agua o colorante con un papel absorbente y se procedió a la observación al microscopio óptico a un aumento de 400 X para poder examinar las estructuras microscópicas y la forma de las levaduras.

Pruebas bioquímicas

Fermentación de carbohidratos (Kurtzman y Fell, 2000).

- Se activó las cepas, se inóculo por estrías en 10 mL de agar YM inclinado en tubos y se incubó a 28 °C por 24 horas.
- Se preparó 100 mL del medio base de fermentación al que se añadió 4 mL de solución base de azul de bromotimol.
- Se agregaron 4 mL del medio base de fermentación en cada tubo de ensayo que contenía campanas Durham para determinar la producción de gas.
- Se acondicionaron tubos separados para cada tipo de azúcar utilizado, además de tubos de control sin inóculo y sin azúcar, así como tubos de referencia a los que se añadió el inóculo, pero sin azúcar. Estos tubos fueron sometidos a esterilización en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.
- Los azúcares empleados fueron glucosa, galactosa, sacarosa, maltosa, lactosa, melibiosa, rafinosa e inulina.
- Una vez que los tubos se esterilizaron y se enfriaron, se introdujeron distintos azúcares en cada uno de ellos con el fin de llevar a cabo el ensayo de concentración al 10 % p/v. Posteriormente, se homogenizó la mezcla y se añadió finalmente 1 mL de la solución de azúcares a cada uno de los tubos que contenían el medio basal de fermentación. Es importante destacar que todo el proceso se efectuó en condiciones estériles.
- Para concluir, se incorporaron 10 mL de agua destilada estéril a las cepas previamente sembradas en agar YM, agitándolas manualmente para liberar las colonias del agar. Luego, se añadió 0.1 mL de la solución a cada uno de los tubos que contenían el medio basal de fermentación.
- Los tubos se movieron con delicadeza y se colocaron en incubación a una temperatura de 28 °C durante un periodo de 28 días. Se efectuaron

inspecciones de los tubos en intervalos de 24 a 48 horas para detectar modificaciones en el color del medio de cultivo y la acumulación de gas.

- La interpretación de los resultados se realizó de la siguiente manera:
En el ensayo de fermentación de azúcares, la presencia de gas en la campana de Durham se consideró como indicativo de la capacidad de fermentar azúcares y al no presentarse el gas en la campana indicó la incapacidad de realizar la fermentación de azúcares.

Para el reporte de resultados se utilizó de los siguientes símbolos:

- + : fuertemente positivo, cambio de color del medio y/o campana se llenó en un periodo de 7 días.
- l : positivo tardío, cambio de color del medio y/o campana se llenó rápidamente en 48 horas, pero después de más de 7 días.
- s : lentamente positivo, cambio de color del medio y /o campana se llenó rápidamente más de 48 horas, pero después de más de 7 días.
- w : débilmente positivo, cambio de color muy sutilmente y/o la campana no está llena de gas.
- : negativo, sin cambio de color y /o sin producción de gas en la campana.
- v : variable en las repeticiones puede ser positiva o negativa.

De acuerdo a los resultados obtenidos de ambos ensayos fueron comparados con la bibliografía en tablas detallado en el anexo 21 y 22.

Hidrólisis de la urea (Kurtzman y Fell, 1998).

- Se sembró las cepas de levaduras en el medio Agar Urea Christensen en tubos inclinados e incubó a 28 °C por 24 horas a 96 horas, luego de ello se observó y se hizo la lectura de los resultados presentando los cambios de color del medio:
(+), alcalino es de color rosa-rojizo.
(-), acidez es de color amarillo.

Pruebas fisiológicas

Determinación de la capacidad de filamentización (Kurtzman y Fell, 2000; Regodón, 1998).

- Para la formación del pseudomicelio se cultivó en láminas portaobjeto conteniendo Agar Papa Dextrosa pH 6.0 (2.5 mL) con ayuda de una pipeta estéril dentro de una placa Petri y varillas estériles para que se apoye la lámina, sembrados en estrías y colocando algodones húmedos estériles pasando hacer incubados a 28 °C durante cinco a siete días, durante este tiempo se aseguró que el algodón este húmedo.

- Se obtuvo el crecimiento del pseudomicelio retirándose la lámina para ser observado en el microscopio a 100 X de aumento.

Determinación de la capacidad de esporulación (Kurtzman y Fell, 2000; Regodón, 1998).

- Se tomó con una asada de un cultivo joven y se sembró al medio YPD para una pre-esporulación y se incubó a 28 °C durante dos días y luego se sembró en el medio de esporulación en agar acetato, durante cinco días a 28 °C.
- Se realizó un frotis con una gota de agua destilada estéril para la observación al microscopio a 400 X de aumento.

3.3.3. Evaluación de la capacidad probiótica de los microorganismos de la chicha de molle

En bacterias lácticas (Rodríguez y García-Godos, 2017; Quispe, 2021).

- Tolerancia a pH ácido: se preparó tubos con caldo Lactobacilli ajustándose el pH a 1.0, 1.5 y 2.0 con HCl al 0.1 N luego se vertió el inóculo de las cepas de bacterias lácticas y se incubó a 37 °C por 24 horas, finalmente se observó crecimiento por turbidez.
- Tolerancia a extractos gástricos: se reactivó las cepas de las bacterias lácticas, se preparó jugo gástrico artificial, con 0.3 g de NaCl y 0.48 g de pepsina y se ajustó a un pH de 2.0 a 2.3 con HCl concentrado, agregando 150 mL de agua destilada estéril y como control se usó el jugo gástrico artificial en un pH de 6.5 a 7.0 con NaOH 5N, luego se esterilizó, se agregó 0.1mL del inóculo en 5 mL de jugo gástrico artificial de pH 2.0 a 2.3 y pH 6.5 a 7.0 (control). Se incubó a 37 °C a 24 horas y se observó la viabilidad celular por turbidez.
- Tolerancia a sales biliares: se preparó bilis de buey a 0.05, 0.1, 0.15 y 0.3 % p/v en tubos que contienen 5mL caldo Lactobacilli para bacterias e incubó a 37 °C a 24 horas y se observó el crecimiento por turbidez.
- Crecimiento a diferentes temperaturas: se utilizó tubos con 5mL con caldo Lactobacilli a un pH 6.5 al cual se añadió 0.1mL de inóculo joven e incubó a diferentes temperaturas (28 °C, 37 °C y 50 °C) durante 24 horas, y se observó el crecimiento por turbidez.

En levaduras (Rodríguez y García-Godos, 2017; Herrera, 2021).

- Tolerancia a pH ácido: se preparó en tubos con 5 mL caldo Sabouraud ajustándose el pH a 1.0, 1.5 y 2.0 con HCl al 0.1 N luego se vertió 0.1 de inóculo de las cepas de levaduras lácticas e incubó a 28 °C por 24 horas y se observó crecimiento por turbidez.

- Tolerancia a extractos gástricos: se reactivó las levaduras lácticas, se preparó jugo gástrico artificial, con 0.3g de NaCl y 0.48g de pepsina y se ajustó a un pH de 2.0 a 2.3 con HCl concentrado, agregando 150 mL de agua destilada estéril y como control se ajustó el jugo gástrico artificial en un pH de 6.5 a 7.0 con NaOH 5N, luego se esterilizó, se agregó 0.1 mL del inóculo en 5mL de jugo gástrico artificial de pH 2.0 a 2.3 y pH 6.5 a 7.0 (control). Se incubó a 28 °C en 24 horas en y se observó la viabilidad celular por turbidez.
- Tolerancia a sales biliares: se preparó bilis de buey a 0.05, 0.1, 0.15 y 0.3 % p/v en tubos que contienen 5 mL caldo Sabouraud respectivamente, previamente se agregó 0.1 mL de las cepas terminado todo ello se incubó a 28 °C a 24 horas y se observó crecimiento por turbidez.
- Crecimiento a diferentes temperaturas: se utilizó tubos con 5 mL en caldo Sabouraud a un pH 6.5 al cual se añadió 0.1 mL de inóculo joven y se incubó a diferentes temperaturas (28 °C, 37 °C y 50 °C) durante 24 horas y se observó el crecimiento por turbidez.

3.4. Análisis estadístico

La investigación por sus características que presenta, no se realizó análisis estadísticos paramétricos y pruebas de significancia. Los datos obtenidos se confeccionaron en tablas y figuras con estadística descriptiva y análisis objetivo del tipo cualitativo que han sido utilizados en el programa Microsoft Excel 2017.

IV. RESULTADOS

Tabla 1. Muestreo de cepas aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.

Nº de muestras	Lugar de muestras	Código de cepas					
		Bacterias lácticas		Levaduras			
1	Santa Bárbara (Tambillo)	BL-1	BL-2	L-1	L-2	L-3	
2			BL-3		L-4		
3			BL-4		L-5	L-6	
4			BL-5			L-7	
5	Merc. Santa Clara	BL-6	BL-7		L-8		
6	Huascaura		BL-8	L-9	L-10	L-11	
7			BL-9	L-12		L-13	
8			BL-10	BL-11	L-14		L-15
9				BL-12	L-16		L-17
10				BL-13		L-18	
11				BL-14		L-19	
12	Acuchimay (Mirador)	BL-15	BL-16	L-20	L-21		
13			BL-17	L-22	L-23		
14	Pacaycasa (Orcasitas)	BL-18	BL-19	L-24		L-25	
15			BL-20		L-26		
16			BL-21		L-27	L-28	
17			BL-22	L-29		L-30	
18	Jesús Nazareno	BL-23	BL-24	L-31		L-32	
19	(Feria)		BL-25	L-33		L-34	
20	San Juan		BL-26	L-35		L-36	
21	Bautista		BL-27	L-37		L-38	
22	(Feria)	BL-28	BL-29	L-39		L-40	
TOTAL		29		40			

BL: Bacteria Lácticas, L: Levaduras

Tabla 2. Especies de microorganismos aislados de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.

Microorganismos	Especies	Nº de cepas	Total de cepas
Bacterias lácticas	<i>Lactobacillus plantarum</i>	9	29
	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	18	
	<i>Leuconostoc lactis</i>	2	
Levaduras	<i>Galactomyces candidum</i>	6	40
	<i>Saccharomyces odessa</i>	17	
	<i>Saccharomyces chodatii</i>	7	
	<i>Saccharomyces kluyveri</i>	5	
	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>	5	
TOTAL	8	69	69

Tabla 3. Características morfológicas de las colonias de bacterias lácticas aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.

Código de cepas	Forma	Borde	Elevación	Superficie	Consistencia	Color	Brillo
BL-1	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Viscosa	Blanco grisáceo	Brilloso
BL-2	Circular	Entera	Elevada	Lisa	Creмосa	Blanco	Brilloso
BL-3	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Viscosa	Blanco grisáceo	Brilloso
BL-4	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Viscosa	Blanco grisáceo	Brilloso
BL-5	Circular	Entera	Elevada	Lisa	Creмосa	Blanco	Brilloso
BL-6	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Viscosa	Blanco grisáceo	Brilloso
BL-7	Circular	Entera	Elevada	Lisa	Creмосa	Blanco	Brilloso
BL-8	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Viscosa	Blanco grisáceo	Brilloso
BL-9	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Viscosa	Blanco grisáceo	Brilloso
BL-10	Circular	Entera	Elevada	Lisa	Creмосa	Blanco	Brilloso
BL-11	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Viscosa	Blanco grisáceo	Brilloso
BL-12	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Viscosa	Blanco grisáceo	Brilloso
BL-13	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Viscosa	Blanco grisáceo	Brilloso
BL-14	Circular	Entera	Elevada	Lisa	Creмосa	Blanco	Brilloso
BL-15	Circular	Entera	Elevada	Lisa	Creмосa	Blanco	Brilloso
BL-16	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмосa	Blanco grisáceo	Brilloso
BL-17	Circular	Entera	Elevada	Lisa	Creмосa	Blanco	Brilloso
BL-18	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмосa	Blanco grisáceo	Brilloso
BL-19	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Viscosa	Blanco grisáceo	Brilloso
BL-20	Circular	Entera	Elevada	Lisa	Creмосa	Blanco	Brilloso
BL-21	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Viscosa	Blanco grisáceo	Brilloso
BL-22	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Viscosa	Blanco grisáceo	Brilloso
BL-23	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмосa	Blanco grisáceo	Brilloso
BL-24	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмосa	Blanco grisáceo	Brilloso
BL-25	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмосa	Blanco grisáceo	Brilloso
BL-26	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмосa	Blanco grisáceo	Brilloso
BL-27	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмосa	Blanco grisáceo	Brilloso
BL-28	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмосa	Blanco grisáceo	Brilloso
BL-29	Circular	Entera	Elevada	Lisa	Creмосa	Blanco	Brilloso

BL: Bacterias Lácticas

Tabla 4. Características microscópicas de bacterias lácticas aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.

Cepas	Gram	Características
BL-1	+	Cocobacilos solos
BL-2	+	Bacilos solos y pareja
BL-3	+	Cocobacilos en pareja
BL-4	+	Cocobacilos en pareja
BL-5	+	Cocobacilos en pareja
BL-6	+	Cocobacilos en pareja y cadena
BL-7	+	Bacilos en pareja
BL-8	+	Cocobacilos en pareja
BL-9	+	Cocobacilos en pareja
BL-10	+	Bacilos solos
BL-11	+	Cocobacilos en pareja
BL-12	+	Cocobacilos en pareja
BL-13	+	Cocobacilos en pareja
BL-14	+	Bacilos en pareja y cadena
BL-15	+	Bacilos solos y en pareja
BL-16	+	Cocobacilos en pareja
BL-17	+	Bacilos en pareja
BL-18	+	Bacilos en pareja
BL-19	+	Cocobacilos en pareja y cadena
BL-20	+	Cocobacilos en pareja
BL-21	+	Bacilos en pareja
BL-22	+	Cocobacilos en pareja
BL-23	+	Cocobacilos en pareja cadena
BL-24	+	Cocobacilos en pareja cadena
BL-25	+	Cocobacilos en pareja
BL-26	+	Cocobacilos en pareja
BL-27	+	Cocobacilos en pareja
BL-28	+	Cocobacilos en pareja
BL-29	+	Bacilos solos

BL: Bacterias Lácticas

Tabla 5. Identificación de bacterias lácticas aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.

Código de cepas aisladas	Especies identificadas
BL-1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-2	<i>Lactobacillus plantarum</i>
BL-3	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-4	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-5	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-6	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-7	<i>Lactobacillus plantarum</i>
BL-8	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-9	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-10	<i>Lactobacillus plantarum</i>
BL-11	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-12	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-13	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-14	<i>Lactobacillus plantarum</i>
BL-15	<i>Lactobacillus plantarum</i>
BL-16	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-17	<i>Lactobacillus plantarum</i>
BL-18	<i>Lactobacillus plantarum</i>
BL-19	<i>Leuconostoc lactis</i>
BL-20	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-21	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-22	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-23	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-24	<i>Leuconostoc lactis</i>
BL-25	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-26	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-27	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-28	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-29	<i>Lactobacillus plantarum</i>

BL: Bacterias Lácticas

Tabla 6. Características morfológicas de las colonias de levaduras aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.

Código de cepas	Forma	Borde	Elevación	Superficie	Consistencia	Color	Brillo
L-1	Rizoide	Rizoide	Plana	Filamentosa	Creмоса	Blanco	Sin brillo
L-2	Irregular	Filamentosa	Elevada	Suave	Creмоса	Blanco	Sin brillo
L-3	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмоса	Crema	Brilloso
L-4	Rizoide	Rizoide	Elevada	Esponjoso	Creмоса	Blanco	sin brillo
L-5	Rizoide	Rizoide	Elevada	Esponjoso	Creмоса	Blanco	sin brillo
L-6	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмоса	Crema	Brilloso
L-7	Irregular	Filamentosa	Elevada	Suave	Creмоса	Blanco	Sin brillo
L-8	Rizoide	Rizoide	Plana	Filamentosa	Creмоса	Blanco	Sin brillo
L-9	Irregular	Ondulado	Umbonada	Rugosa	Semi-seca	Blanco	Mate
L-10	Irregular	Filamentosa	Elevada	Suave	Creмоса	Blanco	Sin brillo
L-11	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмоса	Crema	Brilloso
L-12	Rizoide	Rizoide	Plana	Filamentosa	Creмоса	Blanco	Sin brillo
L-13	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмоса	Crema	Brilloso
L-14	Irregular	Ondulado	Umbonada	Rugosa	Semi-seca	Blanco	Mate
L-15	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмоса	Crema	Brilloso
L-16	Irregular	Ondulado	Umbonada	Rugosa	Semi-seca	Blanco	Mate
L-17	Rizoide	Rizoide	Plana	Filamentosa	Creмоса	Blanco	Sin brillo
L-18	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмоса	Crema	Brilloso
L-19	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмоса	Crema	Brilloso
L-20	Rizoide	Rizoide	Plana	Filamentosa	Creмоса	Blanco	Sin brillo
L-21	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмоса	Crema	Brilloso
L-22	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмоса	Crema	Brilloso
L-23	Rizoide	Rizoide	Plana	Filamentosa	Creмоса	Blanco	Sin brillo
L-24	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмоса	Crema	Brilloso
L-25	Irregular	Ondulado	Umbonada	Rugosa	Semi-seca	Blanco	Mate
L-26	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмоса	Crema	brilloso
L-27	Irregular	Filamentosa	Elevada	Suave	Creмоса	Blanco	Sin brillo
L-28	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмоса	Crema	Brilloso
L-29	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмоса	Crema	Brilloso
L-30	Rizoide	Rizoide	Elevada	Esponjoso	cremosa	Blanco	sin brillo
L-31	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмоса	Crema	Brilloso
L-32	Irregular	Ondulado	Umbonada	Rugosa	Semi-seca	Blanco	Mate
L-33	Irregular	Filamentosa	Elevada	Suave	Creмоса	Blanco	Sin brillo
L-34	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмоса	Crema	Brilloso
L-35	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмоса	Crema	Brilloso
L-36	Irregular	Ondulado	Umbonada	Rugosa	Semi-seca	Blanco	Mate
L-37	Irregular	Filamentosa	Elevada	Suave	Creмоса	Blanco	Sin brillo
L-38	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмоса	Crema	Brilloso
L-39	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Creмоса	Crema	Brilloso
L-40	Irregular	Filamentosa	Elevada	Suave	Creмоса	Blanco	Sin brillo

L: Levaduras

Tabla 7. Características morfológicas de levaduras aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.

Cepas	Forma
L-1	Cilíndricas
L-2	Elípticas
L-3	Ovoides
L-4	Elípticas
L-5	Elípticas
L-6	Ovoides
L-7	Elípticas
L-8	Cilíndricas
L-9	Ovoides
L-10	Elípticas
L-11	Ovoides
L-12	Cilíndricas
L-13	Ovoides
L-14	Ovoides
L-15	Ovoides
L-16	Ovoides
L-17	Cilíndricas
L-18	Ovoides
L-19	Ovoides
L-20	Cilíndricas
L-21	Ovoides
L-22	Ovoides
L-23	Cilíndricas
L-24	Ovoides
L-25	Ovoides
L-26	Ovoides
L-27	Elípticas
L-28	Ovoides
L-29	Ovoides
L-30	Elípticas
L-31	Ovoides
L-32	Ovoides
L-33	Elípticas
L-34	Ovoides
L-35	Ovoides
L-36	Ovoides
L-37	Elípticas
L-38	Ovoides
L-39	Ovoides
L-40	Elípticas

L: Levaduras

Tabla 8. Identificación de levaduras aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.

Codigo de cepas aisladas	Especies identificadas
L-1	<i>Galactomyces candidum</i>
L-2	<i>Saccharomyces chodati</i>
L-3	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-4	<i>Saccharomyces kluyveri</i>
L-5	<i>Saccharomyces kluyveri</i>
L-6	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-7	<i>Saccharomyces chodati</i>
L-8	<i>Galactomyces candidum</i>
L-9	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>
L-10	<i>Saccharomyces chodati</i>
L-11	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-12	<i>Galactomyces candidum</i>
L-13	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-14	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>
L-15	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-16	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>
L-17	<i>Galactomyces candidum</i>
L-18	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-19	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-20	<i>Galactomyces candidum</i>
L-21	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-22	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-23	<i>Galactomyces candidum</i>
L-24	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-25	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>
L-26	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-27	<i>Saccharomyces chodati</i>
L-28	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-29	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-30	<i>Saccharomyces kluyveri</i>
L-31	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-32	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>
L-33	<i>Saccharomyces chodati</i>
L-34	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-35	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-36	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>
L-37	<i>Saccharomyces chodati</i>
L-38	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-39	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-40	<i>Saccharomyces chodati</i>

L: Levaduras

Tabla 9. Capacidad probiótica de bacterias lácticas aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.

Código de cepas	Tolerancia gastrointestinal												Especies	Capacidad Probiótica
	pH			Extractos gastricos		Sales biliares (%)				Crec. a diferentes temperaturas (°C)				
	1.0	1.5	2.0	JG	Control	0.05	0.10	0.15	0.30	28	37	50		
BL-1	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	-
BL-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus plantarum</i>	+
BL-3	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	-
BL-4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	+
BL-5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	+
BL-6	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	-
BL-7	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus plantarum</i>	-
BL-8	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	-
BL-9	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	-
BL-10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus plantarum</i>	+
BL-11	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	-
BL-12	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	-
BL-13	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	-
BL-14	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	<i>Lactobacillus plantarum</i>	-
BL-15	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	<i>Lactobacillus plantarum</i>	-
BL-16	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	-
BL-17	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	<i>Lactobacillus plantarum</i>	-
BL-18	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus plantarum</i>	-
BL-19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc lactis</i>	+
BL-20	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	-
BL-21	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus plantarum</i>	+
BL-22	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	-
BL-23	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	+
BL-24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc lactis</i>	+
BL-25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	+
BL-26	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	+
BL-27	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	-
BL-28	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	-
BL-29	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	<i>Lactobacillus plantarum</i>	-

BL: Bacterias Lácticas

Tabla 10. Capacidad probiótica de levaduras aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.

Código de cepas	Tolerancia gastrointestinal											Especies	Capacidad Probiótica	
	pH			Extractos gástricos		Sales biliares (%)				Crec. a diferentes temperaturas (°C)				
	1.0	1.5	2.0	JG	Control	0.05	0.10	0.15	0.30	28	37			50
L-1	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	<i>Galactomyces candidum</i>	-
L-2	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	<i>Saccharomyces chodati</i>	-
L-3	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces odessa</i>	-
L-4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces kluyveri</i>	+
L-5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces kluyveri</i>	+
L-6	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces odessa</i>	-
L-7	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	<i>Saccharomyces chodati</i>	-
L-8	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Galactomyces candidum</i>	-
L-9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>	+
L-10	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	<i>Saccharomyces chodati</i>	-
L-11	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces odessa</i>	-
L-12	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Galactomyces candidum</i>	-
L-13	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces odessa</i>	-
L-14	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>	+
L-15	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces odessa</i>	-
L-16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>	+
L-17	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Galactomyces candidum</i>	-
L-18	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces odessa</i>	-
L-19	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	<i>Saccharomyces odessa</i>	-
L-20	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Galactomyces candidum</i>	-
L-21	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces odessa</i>	-
L-22	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	<i>Saccharomyces odessa</i>	-
L-23	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Galactomyces candidum</i>	-
L-24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces kluyveri</i>	+
L-25	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces kluyveri</i>	-
L-26	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	<i>Saccharomyces odessa</i>	-
L-27	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces chodati</i>	-
L-28	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces odessa</i>	-
L-29	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	<i>Saccharomyces odessa</i>	-
L-30	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces kluyveri</i>	-
L-31	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces odessa</i>	-
L-32	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>	+
L-33	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces chodati</i>	-
L-34	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces odessa</i>	-
L-35	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	<i>Saccharomyces odessa</i>	-
L-36	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>	+
L-37	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces chodati</i>	-
L-38	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces odessa</i>	-
L-39	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	<i>Saccharomyces odessa</i>	-
L-40	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces chodati</i>	-

L: Levaduras

Tabla 11. Cepas aisladas con capacidad probiótica de los microorganismos a partir de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.

Código de cepas	Tolerancia gastrointestinal											Especies	Capacidad Probiótica	
	pH					Sales biliares (%)				Crec. a diferentes temperatura (°C)				
	1.0	1.5	2.0	JG	Control	0.05	0.10	0.15	0.30	28	37			50
BL-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus plantarum</i>	+
BL-4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	+
BL-5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	+
BL-10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus plantarum</i>	+
BL-19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc lactis</i>	+
BL-21	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus plantarum</i>	+
BL-23	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	+
BL-24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc lactis</i>	+
BL-25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	+
BL-26	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	+
L-4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces kluyveri</i>	+
L-5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces kluyveri</i>	+
L-9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>	+
L-14	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>	+
L-16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>	+
L-24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces kluyveri</i>	+
L-32	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>	+
L-36	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>	+

BL: Bacterias Lácticas, L: Levaduras

Figura 1. Capacidad probiótica de cepas aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.

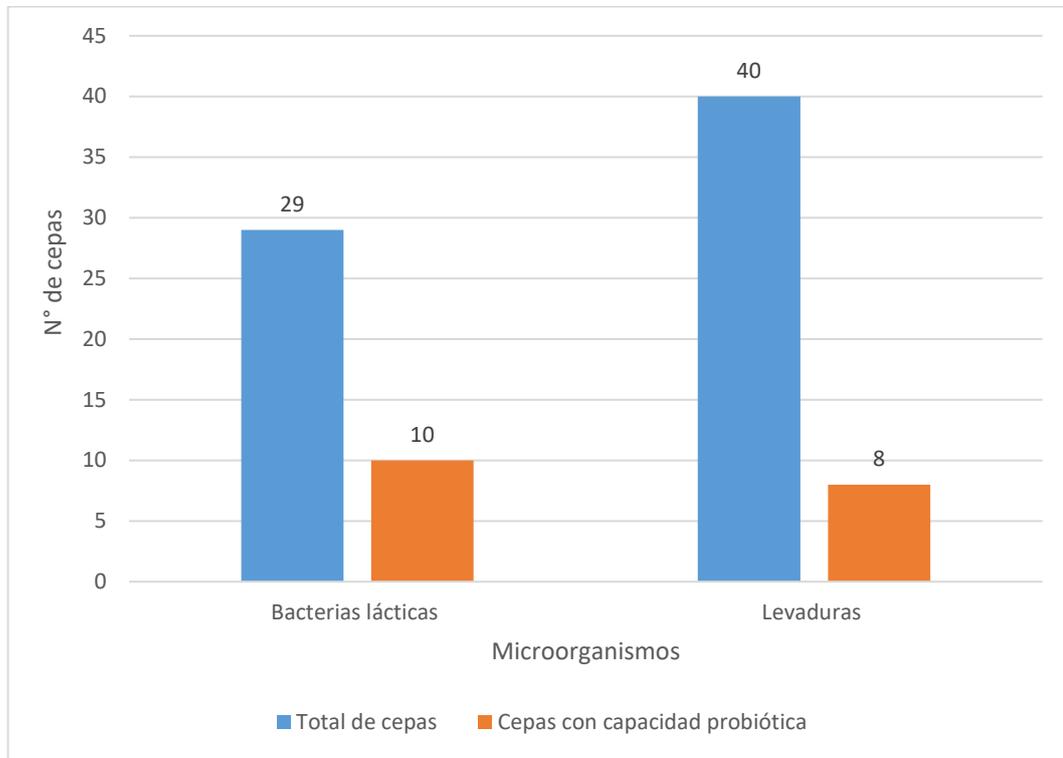


Figura 2. Porcentaje de capacidad probiótica de bacterias lácticas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.

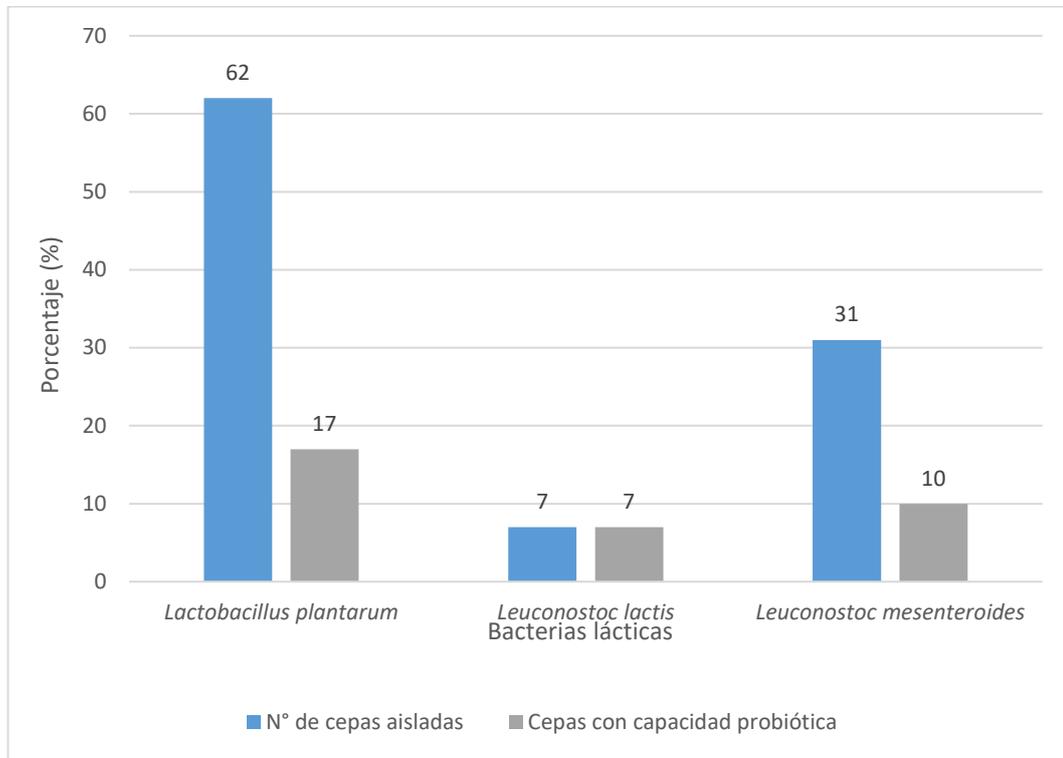
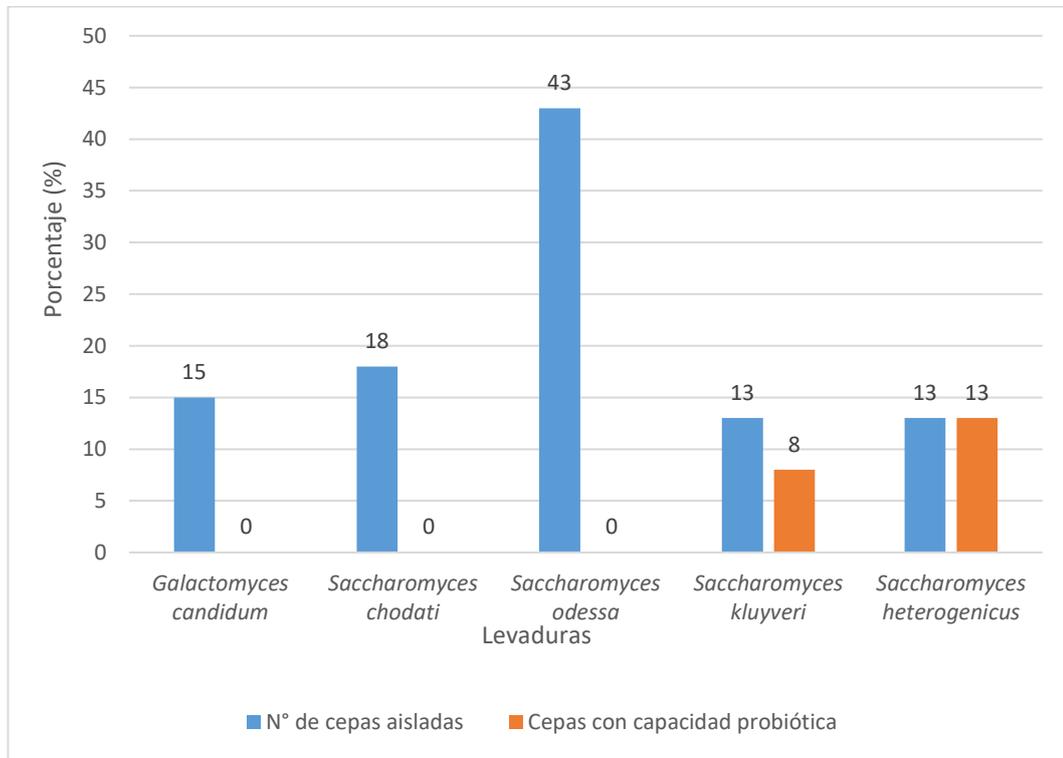


Figura 3. Porcentaje de capacidad probiótica de levaduras de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.



V. DISCUSIÓN

En la investigación se aislaron bacterias lácticas y levaduras de 22 muestras de chichas de molle elaboradas artesanalmente de 7 lugares de la provincia de Huamanga, como se muestra en la Tabla 1, donde observamos que predominaron las cepas de levaduras en comparación a las bacterias lácticas debido a que requieren un medio de aislamiento muy exigente presentando especificidad fisiológica y necesitan de medios selectivos para sus procesos de crecimiento y desarrollo (Vos et al., 2009), en la investigación de Vanegas (2014) quien aisló *Lactobacillus* de kéfir de leche empleó el medio MRS (Man, Rogosa y Sharpe), además Jang et al., (2014) mencionan que la diversidad de microorganismos presentes en la fermentación láctica de manera espontánea favorece el contenido nutricional en micronutrientes y aminoácidos al consumidor.

En la investigación se aislaron 69 cepas de bacterias lácticas y levaduras de chichas de molle resultados que se muestran en la Tabla 2, en ella apreciamos que dentro de las bacterias lácticas como *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc lactis* y *Lactobacillus plantarum* en cambio en las levaduras lácticas se reportó *Saccharomyces odessa*, *Sacharomyces chodatii*, *Sacharomyces kluyveri*, *Saccharomyces heterogenicus* y *Galactomyces candidum* resultados similares a la investigación de Rodríguez y García-Godos (2017) quienes aislaron *Leuconostoc* y *Lactobacillus*, es necesario resaltar que estos géneros se encuentran con mayor frecuencia en las bebidas fermentadas debido a que estas tiene el sustrato ideal para estos microorganismos y también presentan una elevada capacidad probiótica probada *in vitro* e *in vivo*, estos resultados se fundamentan además con la investigación de Astudillo et al., (2023) quien aisló los géneros como *Lactococcus*, *Weisella*, *Acetobacter*, *Zymomonas*, *Saccharomyces*, *Kluveromyces*, *Hanseniaspora* en pulque esto fue en base a la diversidad microbiológica de fermentaciones espontáneas tradicionales y se

encontraron diferentes géneros debido a la predominancia y dependencia de la matriz vegetal (Bernal et al., 2017).

Asimismo se reportó en los resultados de Pazmiño (2013), quien aisló a partir de chicha de arroz 12 cepas de bacterias lácticas entre ellas *Leuconostoc* y *Lactobacillus*, 13 cepas de enterobacterias del género *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Yersinia* y *Proteus* y 9 cepas de levaduras del género *Saccharomyces* y *Candida*, 15 cepas de moho como *Aspergillus* y *Penicillium*, esta variedad de microorganismo es debido a la manipulación y preparación de la bebida tradicional; encontrándose con mayor frecuencia el género *Saccharomyces* debido a que estas levaduras tienen la capacidad de poder sobrevivir y crecer en una gran variedad de ambientes y condiciones (Goddar y Greig, 2015).

En la Tabla 3, se muestra las características macroscópicas de las bacterias lácticas como la forma, borde, consistencia, color y brillo resultados similares por Landa et al., (2019) quién al realizar el aislamiento e identificación de *Leuconostoc* y *Lactobacillus* en leche y calostro comparten los microorganismos que resultan las características culturales de las colonias como circulares, bordes enteros, color blanco (Vos et al., 2009). Para las características microscópicas presentadas en la Tabla 4, se muestra que el 100 % de las cepas aisladas son Gram positivas para los géneros de *Lactobacillus* y *Leuconostoc* presentan forma bacilar y cocobacilos respectivamente, resultados similares por Landa et al., (2019) que confirman lo reportado que son Gram positivos, forma bacilar y cocobacilos sin esporas.

Para la identificación de las bacterias lácticas se basó en pruebas bioquímicas (catalasa y fermentación de carbohidratos respectivamente) resultando que el 100 % de las cepas aisladas son catalasa negativa y para la fermentación de azúcares, se empleó de 19 azúcares, lo cual nos permitió identificar las 29 cepas aisladas, 18 *Leuconostoc mesenteroides*, 2 *Leuconostoc lactis* y 9 *Lactobacillus plantarum*, en base a la Tabla 5 de acuerdo al Manual de identificación de Bergey, resultados parecidos por Rodríguez y García-Godos, (2017) que de 55 muestras de chicha de molle elaborados artesanalmente llegando a identificar que el 100 % de las cepas de *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus maltaromicus* presentando una reacción positiva al Gram.

En las características macroscópicas de las levaduras se reporta en la Tabla 6, la forma, elevación, consistencia, color y brillo de las colonias, presentando resultados diferentes entre sí en la forma y elevación de las especies aisladas

como *Saccharomyces Kluyveri*, *Saccharomyces chodati* y *Saccharomyces heterogenicus*, predominando las cepas de *Saccharomyces odessa* siendo las colonias de forma circulares, cremosas con brillo y de superficie lisa así tenemos investigaciones similares por Ochoa et al., (2019) quienes aislaron e identificaron cepas de *Saccharomyces* en la elaboración de cerveza, en la que muestra que la mayoría de colonias son blancas, cremosas con brillo por otra parte Lagos (2017), identificó y caracterizó levaduras en granos de cacao especies de *Saccharomyces*, *Candida*, *Hanseniaspora*, *Kodamaea*, *Meyerozyma*, *Pichia*, *Rhodotorula* y *Galactomyces*, resultados parcialmente parecidos en dos géneros ya que la población de levaduras fermentadoras del cacao es muy diversa y heterogénea debido a su proceso de fermentación. En la Tabla 7, se muestra sus características morfológicas como forma ovoide, elíptica y cilíndrica, resultados semejantes a las de Lagos (2017) quién observó forma ovoide, elíptica, cilíndrica y el tipo de gemación.

Para la identificación de levaduras aisladas en chicha de molle, se realizó pruebas fisiológicas como la formación de filamentos y ascaesporas, todas las cepas como *Saccharomyces chodati*, *Saccharomyces kluyveri*, *Saccharomyces heterogenicus* y *Galactomyces candidum* formaron filamentos excepto las cepas de *Saccharomyces odessa* y las ascaesporas del género *Saccharomyces* y *Galactomyces* son de forma redonda asimismo se realizó las prueba bioquímicas como hidrólisis de la urea siendo negativo para las cepas del género *Saccharomyces* y positivo para las cepas *Galactomyces*, también se procedió la fermentación de carbohidratos en la que se utilizó 8 azúcares que permitió identificar las 40 cepas aisladas 18 *Saccharomyces odessa*, 8 *Saccharomyces chodati*, 2 *Saccharomyces kluyveri*, 6 *Saccharomyces heterogenicus* y 6 *Galactomyces candidum* según Tabla 8 en base a la literatura (Kurtzman, C. y Fell, 1998) resultados parcialmente parecido con la investigación de Coronel (2015), quien procesó 30 frutas maduras de mortiño de las cuales identificó cepas de *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida krusei* aislados en medio agar YPD, no llegando aislar los otras especies de *Saccharomyces* y *Galactomyces* debido al tipo de sustrato vegetal y medio de aislamiento empleado que favorece el crecimiento de algunas especies.

La capacidad probiótica de las 29 cepas de bacterias lácticas aisladas, reportadas en la Tabla 9, se muestra que algunas cepas de *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc lactis* y *Lactobacillus plantarum* son tolerables a pH 1 y 2, en

condiciones gastrointestinales, valores similares por Rodríguez y García-Godos (2017) quienes en su investigación evaluaron la capacidad probiótica de sus cepas aisladas e identificados de chichas de molle *in vitro* e *in vivo* en ratas, lo que evidencia que estos microorganismos toleran la acidez y que al consumirlos logran desarrollarse en las paredes del intestino como probióticos. Por lo general, las cepas de *Lactobacillus* y *Leuconostoc* tienden a mostrar una mayor resistencia al desarrollo en entornos ácidos, pudiendo prosperar incluso en condiciones con un pH bajo como 4. Esto otorga la capacidad de mantener su presencia en procesos de fermentación láctica naturales, mientras que otras bacterias no pueden sobrevivir en tales condiciones ácidas (Vos et al., 2009). Las bacterias lácticas aisladas en las chichas de molle se reportaron tolerables a temperaturas de 28 °C hasta 50 °C porque son mesófilas y termófilas además presentan tolerancia frente a extractos gástricos como al jugo gástrico con pH 2 - 3 y al control con pH 6 - 7, es decir las bacterias lácticas poseen un mecanismo de sobrevivencia y generan cantidades significativas de ácido láctico, lo cual intensifica la acidificación del entorno, suprime la acción de la enzima ureasa y previene la expansión de los microorganismos patógenos como *Helicobacter pylori* (Guzmán, 2021). Las bacterias lácticas del género *Lactobacillus* tienen la capacidad de sintetizar la enzima denominada sal biliar hidrolasa (SBH) la cual descompone las sales biliares además de ser un potencial reductor de colesterol entonces cuanto mayor sea la población de estas habrá mayor influencia del metabolismo del colesterol y posterior reducción del colesterol sérico (Bustos et al., 2017).

En la Tabla 10, se muestra la capacidad probiótica de 40 cepas de levaduras aisladas en chichas de molle, pero solo algunas cepas como *Saccharomyces kluyveri* y *Sacharomyces heterogenicus*, son tolerables a pH 1 a 2, por lo tanto, hay levaduras que se desarrollan y crecen en estos medios ácidos como las bacterias lácticas que resisten a pH ácidos posiblemente se deba a la existencia de proteínas especializadas. Estas proteínas son responsables de facilitar el intercambio de iones monovalentes, como el sodio (Na⁺) o el potasio (K⁺), y el hidrógeno (H⁺) a través de las membranas celulares. Esto les permite regular las concentraciones de iones y el pH tanto en el citoplasma como en los organelos (Cueto y Aragón, 2012).

Las especies de *Saccharomyces chodati* y *Saccharomyces odessa* no lograron crecer a temperatura de 50 °C, de acuerdo con la literatura de (Kurtzman, C. y Fell, 1998) puesto que crecen a temperatura de 30 a 40 °C del género

Saccharomyces, debido a que la temperatura es un factor crítico que influye significativamente en el desarrollo y supervivencia de los microorganismos, y esta influencia puede variar de un género a otro. Esta variabilidad se relaciona con la temperatura ideal en el entorno natural de cada género; si sube la temperatura las reacciones enzimáticas y químicas se aceleran hasta llegar a un límite e inactivarse además que influye en la función de la estructura plasmática como la disminución de ácidos grasos insaturados en la membrana, represión de síntesis de proteínas mitocondriales y destrucción del material genético.

Y con respecto a la tolerancia a diferentes concentraciones de sales biliares (0.05 %, 0.10 %, 0.15 % y 0.30 %), obtuvimos que en su mayoría de las cepas aisladas presentaron crecimiento, se ha observado que las levaduras pertenecientes del género *Saccharomyces* pueden tolerar altas concentraciones de sales biliares. Esto se debe a la presencia de proteínas integrales de membrana ligadas al ATP (proteínas ABC) que facilitan el transporte de sales biliares conjugadas de manera eficiente. Además, otro mecanismo potencial de tolerancia implica la acumulación de polioles y glicerol, los cuales regulan la presión osmótica dentro de la célula (Kurtzman y Fell, 1998; Mendoza, 2013).

En la Tabla 11, se señala a las cepas con capacidad probiótica de los microorganismos aislados de chichas de molle elaboradas artesanalmente como *Leuconostoc mesenteroides* (BL-4, BL-5, BL-23, BL-25 y BL-26), *Leuconostoc lactis* (BL- 19 y BL-24) y *Lactobacillus plantarum* (BL-2, BL-10 y BL-21) *Saccharomyces kluyveri* (LL-4, LL-5 y LL-24) y *Sacharomyces heterogenicus* (LL-9, LL-14, LL-16, LL-32 y LL-36) son candidatas potenciales para ser probióticos porque cumplen con las condiciones gastrointestinales, resultados similares por Guzmán (2021), quien aisló y evaluó los microorganismos en kombucha a condiciones del tracto gastrointestinal *in vitro* encontrando levaduras y bacterias lácticas con alta capacidad de resistencia de colonizar y permanecer en el colón. Así mismo Calderón (2018) menciona en su estudio de caracterización del proceso de elaboración artesanal en la bebida fermentada tradicional a base de maíz menciona que la diversidad microbiana es un punto a favor del consumo de bebidas tradicionales a comparación de bebidas creadas en plantas por sus nutrientes y condiciones organolépticas.

En la Figura 1, se observa la capacidad probiótica de 29 cepas de bacterias lácticas solo 10 cepas presentan capacidad probiótica y de 40 cepas de levaduras solo 8 cepas muestran capacidad probiótica, finalmente se contempla que las

bacterias lácticas son las más resistentes a condiciones gastrointestinales como las especies aisladas de *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc lactis* y *Lactobacillus plantarum* por demostrar sus características fisiológicas, propiedades bioquímicas y resistencia contra ambientes ácidos (Vanegas, 2014). Como se observa en la figura 2, del 100 % del total de bacterias lácticas aisladas se muestra que el 17 % de *Leuconostoc mesenteroides*, el 10 % de *Lactobacillus plantarum* y 7 % de *Leuconostoc lactis* presentan capacidad probiótica pues cumplen con las directrices propuestas como la capacidad de sobrevivir a la acidez, proliferarse, resistencia a los jugos gástricos, capacidad de crecer en presencia de bilis, que han sido establecidos en el “Documento del comité especializado en la elaboración de pautas destinadas a la evaluación de los productos probióticos en la industria alimentaria” presentado conjuntamente por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) (Rodríguez, 2015).

Se visualiza en la figura 3, que el 100 % del total de levaduras aisladas el 13% de *Saccharomyces heterogenicus* y el 8 % de *Saccharomyces kluyveri* han presentado capacidad probiótica y las demás no lograron cumplir con algunas condiciones probióticas, si bien es cierto que las bacterias lácticas son más estudiadas en la actividad probiótica se ha demostrado en las investigaciones de Bonatsou et al., (2018) quienes aislaron 49 cepas de levaduras de la fermentación de aceitunas negra Kalamata y realizaron la capacidad probiótica, logrando solo 24 de cepas el 75 % de autoagregación, una tasa de supervivencia del 70 % *in vitro* en digestiones gástricas y pancreáticas simuladas.

VI. CONCLUSIONES

1. Se aislaron 29 cepas de bacterias lácticas y 40 cepas de levaduras a partir de 22 muestras de chichas de molle de la provincia de Huamanga.
2. Se identificó a las 29 bacterias lácticas de las especies de *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* y *Leuconostoc lactis*; de las 40 levaduras se identificó a *Saccharomyces odessa*, *Saccharomyces chodati*, *Saccharomyces kluyveri*, *Saccharomyces heterogenicus* y *Galactomyces candidum* de acuerdo a sus características macroscópicas, microscópicas, pruebas fisiológicas y bioquímicas.
3. Según las pruebas de capacidad probiótica, las cepas (BL-2, BL-4, BL-5, BL-10, BL-19, BL-21, BL-23, BL-24, BL-25 y BL-26) de bacterias lácticas y (LL-4, LL-5, LL-9, LL-14, LL-16, LL-24, LL-32 y LL-36) de levaduras fueron tolerables a las condiciones gastrointestinales como al pH ácido, extractos gástricos, sales biliares y a temperaturas de 28, 37 y 50 °C.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar una identificación molecular a las bacterias lácticas y levaduras.
- Desarrollar un protocolo para poder evaluar la capacidad probiótica *in vivo*.
- Optimizar la producción de la chicha de molle con las bacterias y levaduras lácticas aisladas.
- Formular productos como leches fermentadas, bebidas lácticas con el uso de las cepas aisladas.
- Desarrollar un análisis microbiológico y control de calidad a las chichas de molle.
- Evaluar la diversidad microbiana y las alteraciones en el proceso de la fermentación.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agarbaty, A., Canonico, L., Marini, E., Zannini, E., Ciani, M. y Comiti, F. (2020). Potential probiotic yeast sourced from natural environmental and spontaneous processed foods. *Article foods MDPI*, (3), 287. <https://www.mdpi.com/2304-8158/9/3/287>
- Aranda, A. (2019). *Caracterización bioquímica y tecnológica de levaduras aisladas en bebidas fermentadas y tradicionales de Ecuador*. [Tesis doctoral en Biomedicina y Biotecnología]. Universidad de Valencia.
- Alaves, T., Ferreira dos Santos, T., Ramos, L., Moreira, H., Passos, R. y Romano, C. (2017). Functional profile evaluation of *Lactobacillus fermentum*: A new potential probiotic strain isolated during cocoa fermentation. *BioMed Research International*, 2, 1-7. <https://doi.org/10.1155/2017/5165916>
- Astudillo, F., Hernandez, G., Rodriguez, M., Bolivar, F. y Escalante, A. (2023). Analysis of the Microbial Diversity and Population Dynamics during the Pulque Fermentation Process. *Article Fermentation MDPI*, 9(4), 342. <https://www.mdpi.com/2311-5637/9/4/342>
- Bernal, C., Diaz, C., y Gutierrez, C. (2017). Probióticos y prebióticos en matrices de origen vegetal: avances en desarrollo de bebida de frutas. *Rev Chil Nutr*, 4(44), 383-392. <http://dx.doi.org/10.4067/s0717-75182017000400383>
- Bernal, C. (2017). *Evaluación del comportamiento de cultivos probióticos y prebióticos en bebidas de frutos rojos*. [Tesis para el título de Magister en Ciencia y Tecnología de alimentos]. Universidad Nacional de Colombia.
- Björkroth, J., Dicks, L. M., Endo, A., y Holzappel, W. (2014). The genus *Leuconostoc*. In: *Lactic acid bacteria: biodiversity and taxonomy*, (1st edition). Editorial John Wiley & Sons.
- Bonatsou, S., Karamouza, M., Zoumpoulou, G., Mavrogonatos, E., Nychas, G. y Panagou, E. (2018). Evaluating the probiotic potential and technological characteristics of yeast implicated in cv. Kalamata natural black olive fermentation. *Int J Food Microbiol*. 20(271). 48-59. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/translate.goog/29494892>
- Bustos, A., Fadda, S., Font de Valdez, G., Raya, R. y Taranto, M. (2017). Mecanismos involucrados en la resistencia a bilis en *Lactobacillus reuteri*, una bacteria probiótica. *Rev IDItec*, 10(6), 5-20. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/75038>
- Calderón, M. (2018). *Caracterización del proceso de elaboración artesanal y en planta de una bebida fermentada tradicional a base de maíz (Zea mays L.)*. [Tesis para el título de Magister en Ciencia y Tecnología de alimentos]. Universidad Nacional de Colombia.
- Cárdenas, V. (2016). Guía de prácticas de Bacteriología. 66-70. Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga.
- Cerero, C., Sánchez, M., Pérez, A., Pérez, D. y García, I. (2022). Probióticos en bebidas fermentadas mexicanas. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 25, 1-13. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2022.436>
- Ciani, M., y Comitini, F. (2015). Yeast interactions in multi-starter wine fermentation. *Current Opinion in Food Science*, 1, 1-6. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs>.

- Coronel, D. 2015. *Aislamiento e identificación de taxa de levaduras presentes en el fruto mortiño (Vaccinium floribundum) con capacidad fermentativa y resistencia alcohólica*. [Tesis para obtener el título de Ingeniera en Biotecnología de los Recursos Naturales]. Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito.
- Cueto, C. y Aragón, S. (2012). Evaluación del potencial probiótico de bacterias lácticas para reducir el colesterol *in vitro*. *Rev Scientia Agropecuaria*, 3(1), 45-50. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=357633701006>
- Di Cagno F, Filannino P, Cantatore V, Polo A, Celano G, Martinovic A, Cavoski I, Gobbetti M. (2020). Design of potential probiotic yeast starters tailored for making a cornelian cherry (*Cornus mas L.*) functional beverage. *International Journal of Food Microbiology*, 323. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108591>
- Essabiri, H., Mohamed, A., Ainane, A., Boumalkha, O., Cherroud, S., El Yaacoubi, Adnane. (2021). Essential oil of wild pepper fruits (*Schinus molle*) from morocco: chemical composition and biological activities. *Pharmacology Online*, 2, 492-498. https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2021/vol2/PhOL_2021_2_A056_ESSABIRI.pdf
- Freire, A. (2015). *Streptococcus salivarius bacteria associated to human saliva is a major component of indigenous beer (chicha) from Ecuador*. [Tesis de Maestría en Microbiología]. Universidad San Francisco de Quito.
- Gibbons, J., y Rinker, D. (2015). The Genomics of Microbial Domestication in the Fermented Food Environment. *Current opinion in Genetics y Development*, 35, 1-8. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4695309/>
- Goddard, M. y Greig, D. (2015). *Saccharomyces cerevisiae: a nomadic yeast with no niche?*. *Rev Oxford Academic*, 15 (3). <https://academic.oup.com.translate.google/femsyr/article/15/3/fov009/>.
- Guzmán, M. (2021). *Resistencia de microorganismos aislados de kombucha a condiciones del tracto gastrointestinal in vitro*. [Tesis para el grado académico Maestra en Ciencias en Innovación Biotecnológica con opción terminal de Tecnología Agroalimentaria]. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C.
- Herrera, D. (2021). *Capacidad probiótica de bacterias lácticas y levaduras recuperadas del proceso de fermentación del cacao con potencial uso industrial*. [Tesis para obtener el grado de Microbiólogo Industrial]. Pontificia Universidad Javeriana de Colombia.
- Herrera, Y. (2021). *Estudio de la diversidad de Bacterias lácticas nativas con actividad antimicrobiana, proteolítica y aminogénicas aisladas de salchichas huachanas elaboradas artesanalmente*. [Tesis para obtener el título de Bióloga Microbióloga Parasitóloga]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Husz MJM, Byng JW. (2016). *Rev Phytotaxa*, 261(3), 201–217. <https://phytotaxa.mapress.com/pt/article/view/phytotaxa.261.3.1>
- International Centre for Research in Agroforestry (ICRAF).(2012).World Agroforestry Centre: AgroForestryTree Database, <http://www.worldagroforestrycentre.org>
- Integrated Taxonomic Information System. (2012). *Choice Reviews Online*, 49, 49–6871.

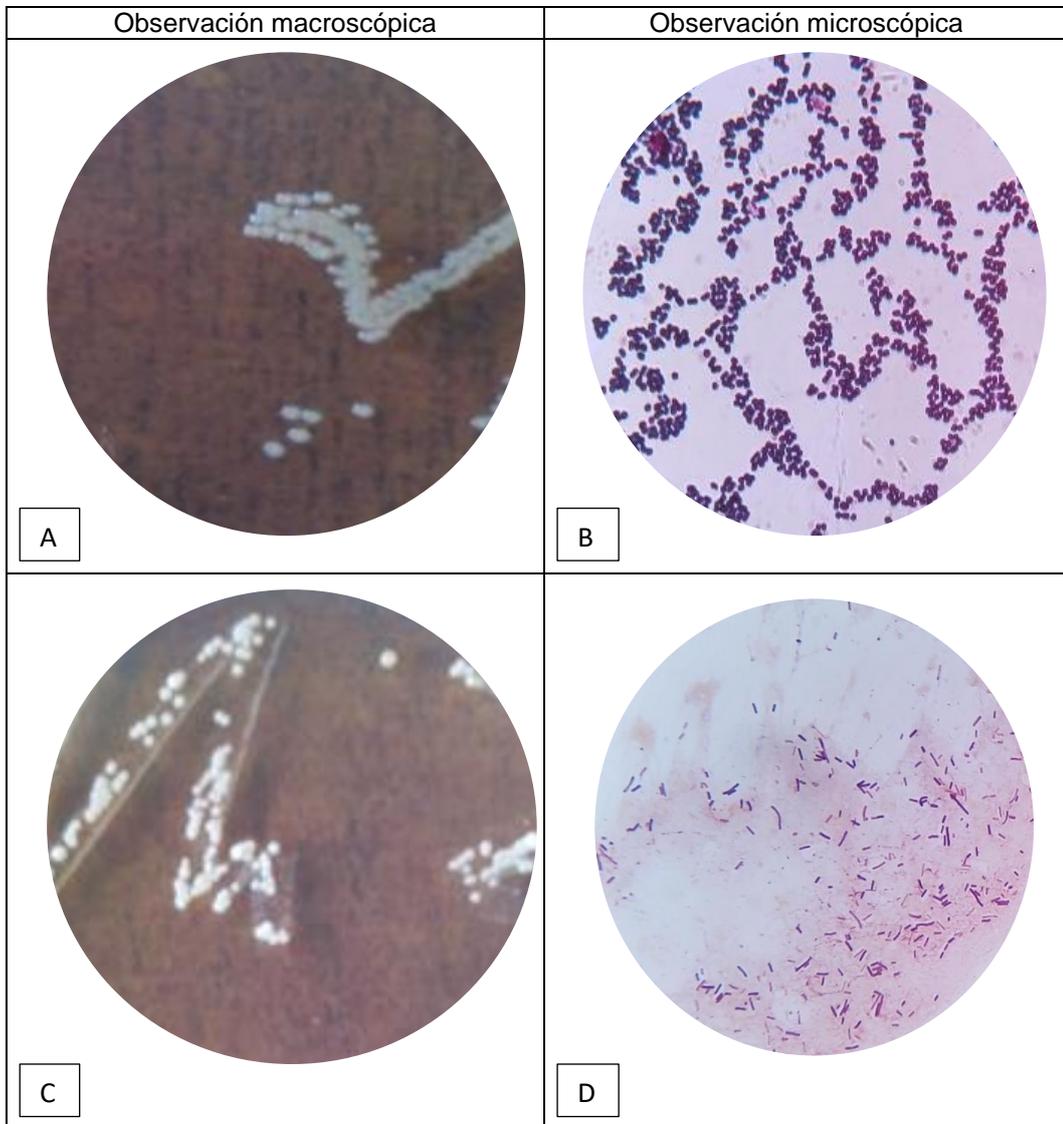
- Illanes, Andres. (2015). Alimentos funcionales y biotecnología. *Revista Colomb. biotec*, 17(1), 5-8. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5430247>
- Jang, Y. K., Lee, M. Y., Kim, H. Y., Lee, S., Yeo, S. H., Baek, S. Y., & Lee, C. (2014). Metabolite Profiling and Antioxidant Activity Comparison of Traditional and Commercial Vinegars. *J Microbiol Biotechnol*, 25(2), 217–226. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25293630>
- Kurtzman, C. y Fell, J. (1998). The yeasts, taxonomic study. *Angewandte Chemie International Edition*, 6 (11), 951–952., 4, 3–788.
- Lagos, J. (2017). *Identificación y caracterización de levaduras fermentadoras de cacao (Theobroma cacao) provenientes de centros de acopio de dos localidades del Ecuador*. [Tesis para el título Ingeniero Agroindustrial]. Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Landa, P., Caballero, Y., Ramírez, F., Hernández, A., Ramírez, L., Espinosa, D. y Hernández, D. (2019). Aislamiento e identificación de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico para becerros del altiplano mexicano. *Rev Mex Cienc Pecu*, 10(1), 68-83. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-112420190
- López, H. (2015). *Diversidad microbiana asociada a los procesos de fermentación de la chicha de jora de Imbabura-Ecuador*. [Tesis para el título Ingeniero Agroindustrial]. Universidad Tecnológica Equinoccial.
- Lv, X., Lang, X., Zhang, W., Fan, P. y Li, N. (2013). Diversidad de levaduras de iniciadores tradicionales de fermentación alcohólica para la elaboración de vino de arroz glutinoso Honq Qu, mediante métodos dependientes e independientes del cultivo. *Rev Elsevier*, 34(1), 183-190. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S09567135130020>
- Mac-Faddin, J. (1990). Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Panamericana. <https://books.google.com.pe/books?id=FYWSzy7EjROC&printsec>
- May, A., Narayanan, S., Alcock, J., Varsani, A., Maley, C., Akipis, A. (2019). Kombucha: a novel model system for cooperation and conflict in a complex multi-species microbial ecosystem. *Rev Peer J*, 7, 1-22. <https://peerj.com/articles/7565/>
- Mendoza, A. (2013). *Caracterización de la levadura Kluyveromyces marxianus como microorganismo probiótico*. [Tesis para el grado académico en Maestría en Ciencias Biomédicas y la Salud]. Universidad del Estado de Hidalgo.
- Monroy, M., Valle, W., Coyoy, J. y Iván, D. (2016). Determinantes dietéticos del consumo de zinc en menores de cinco años con retardo del crecimiento en comunidades mayas de Guatemala. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 34, <https://rpmesp.ins.gob.pe/rpmesp/rt/printerFriendly/2276/2843>
- Mujica, F. (2003). *Caracterización bioquímica y tecnológica de bebidas fermentadas tradicionales*. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga
- Mujica, F., Palomio, S., y Garcia Godos, P. (2016). Biotecnología General - Guía de prácticas. 4-8. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga
- Ochoa, A., Barrios, A., Simonsen, E., y Tejeda, S. (2019). Identificación morfológica, fisiológica y molecular de levaduras del género *Saccharomyces* para la

- elaboración de cerveza. *Revista Mente Joven*, 8, 55-64.
<https://revistas.unilibre.edu.co/index.php/ment>
- Pacheco, K., Saucedo, C., Rodríguez, L. y Pérez, M. (2023). Características de microorganismos utilizados como probióticos tradicionales y nuevos probióticos. *Revista Actualidades Biológicas*, 45 (119), 1-12.
<https://revistas.udea.edu.co/index.php/actbio/article/view/351353#:~:text=>
- Pazmiño, D. (2013). *Diversidad microbiana asociada a los procesos de fermentación de la chicha de arroz en la provincia bolívar*. [Tesis para el título de Ingeniero de Alimentos]. Universidad Tecnológica Equinoccial.
- Pagani AAC, Souza ALG de, Souza D. (2014). Quantification of Bioactive Compounds of Pink (*Schinus Terebinthifolius*, Raddi). *Int J Eng Innov Technol*, 4, 37–41.
https://www.ijeit.com/Vol%204/Issue%205/IJEIT1412201411_08.pdf
- Pell SK, Mitchell JD, Miller AJ, et al. Anacardiaceae. (2011). In: Kubitzki K (ed). *The families and genera of vascular plants*, 10, 7–50.
- Perez, F., Velasco, M., Quispe, G., Flores, J. y Michalsky, D. (2014). Medicina veterinaria alternativa: plantas medicinales, el uso del molle (*Schinus molle*), como analgésico natural post- quirúrgico en gonadectomía prepuberal en caninos (castración a edad temprana) en la ciudad de Sucre. *Revista de Ciencias Naturales y Agrarias*, 1, 23-36.
https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Ciencias_Naturales_y_Agropecuarias/Ciencias-Naturales-y-Agropecuarias-23-36.pdf
- Prakash, J. (2015). Microorganisms in Fermented Foods and Beverages. *Researchgate*, 1, 1-110.
https://www.researchgate.net/publication/281560807_Microorganisms
- Quispe, J. (2021). *Efecto antimicrobiano de cepas probióticas de Lactobacillus frente a microorganismos patógenos*. [Tesis para obtener el título de Bióloga con mención a la especialidad de Microbiología]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
- Rivera, P. (2018). *Identificación de los microorganismos fermentadores de diferentes chichas de Jora en la región norte de Ecuador*. [Tesis para obtener el título de Ingeniera en procesos Biotecnológicos]. Universidad San Francisco de Quito.
- Rodríguez, J., y García, P. (2017). Probiotic capacity of lactic acid bacteria isolated from chicha of molle. Capacidad probiótica de bacterias lácticas aisladas de chicha de molle. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 83(4), 391–402.
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X201700
- Rodríguez, J. (2015). Probióticos: del laboratorio al consumidor. *Revista científica de América Latina*, 31 (1), 33-47.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=309238517005>
- Rogodón, J.(1997). Obtención y caracterización de cepas autóctonas de levaduras para la elaboración estandarizada de vinos de calidad. [Tesis para obtener el título de Ingeniera en procesos Biotecnológicos]. Universidad de Extremadura de España.
- Roman, A. (2013). Empleo de probióticos y prebióticos en pediatría. *Revista de Nutrición Hospitalaria*, 28(1), 155-156.
https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid

- Rondon, L., Añez, M., Salvatierra, A., Meneses, R. Y Heredia, T. (2015). Probióticos: generalidades. Guías de manejo clínico, 78(4), 123-128. https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06492015000400006
- Sánchez, H., y Ochoa, G. (2018). Antibiotic action of lactic acid bacteria (LAB) isolated from the digestive tract of the piglet (*Sus scrofa domestica*). *Manglar*, 15(1), 67–80. <https://doi.org/10.17268/manglar.2018.008>
- Sánchez, R., Omura, M., Landa, P. y Espinoza, D. (2015). Cepas de *Lactobacillus spp.* con capacidades probióticas aisladas en el tracto intestinal de terneros neonatos. *Revista Salud Animal*, 37(2), 94 - 104. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid
- Sanlier, N. (2017). Health benefits of fermented foods. *Journal Critical Reviews in Science and Nutrition*, 57(8), 1681-1687. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408>
- Siccha, R. (2021). Aislamiento de levaduras *Saccharomyces spp* a partir de bayas de uva para su aplicación en procesos de fermentación de cerveza. [Tesis para obtener el título de Ingeniero Agroindustrial]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos..
- Tagmag, J., Watanabe, K. y Wilhelm, H. (2016). Diversidad de microorganismos en alimentos y bebidas fermentadas a nivel mundial. *Rev Pubmed*, 7, 377. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4805592/#B168>
- Thuy Ho V, Zhao J, Fleet G. (2014). Yeasts are essential for cocoa bean fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 174, 72-87. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodm>
- Cunha, J., Hilsdorf, R., Ferreira, W. (2018). Probiotic potential of yeasts isolated from pineapple and their use in the elaboration of potentially functional fermented beverages. *Food Research International*, 107, 518-527. <https://www.sciencedirect.com/science/arti>
- USDA. Agricultural Research Service, National Plant Germplasm System Germplasm Resources Information Network (GRIN-Taxonomy). (2018). National Germplasm Resources Laboratory, <https://npgsweb.arsgrin.gov/gringlobal/taxonomydetail.aspx?>
- Vanegas, C. (2014). *Obtención de bacterias lácticas mediante el aislamiento de kefir de leche, para la optimización en la síntesis de ácido láctico por fermentación*. [Tesis para obtener el título de Ingeniería Química]. Universidad de los Andes.
- Vos, P., Garrity, G., D. J., Krieg, N., Ludwig, W., Rayney, F., W., Scheifer, K-H., y Whitma, W. (2009). Systematic Bacteriology Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Second edi). The firmicutes. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-68489-5>
- Yepez, A. (2018). *Potencial biotecnológico de bacterias lácticas aisladas de productos fermentados de Latinoamérica y su aplicación en alimentos funcionales*. [Tesis doctoral]. Universidad de Valencia.

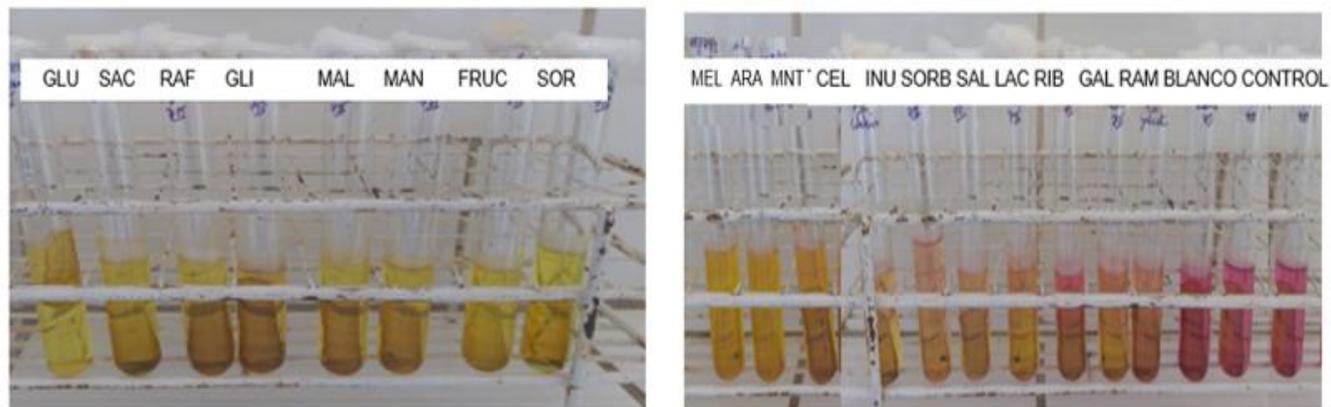
ANEXOS

Anexo 1. Fotografías de la morfología de las colonias y observaciones microscópicas de *Leuconostoc* y *Lactobacillus* a partir de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.

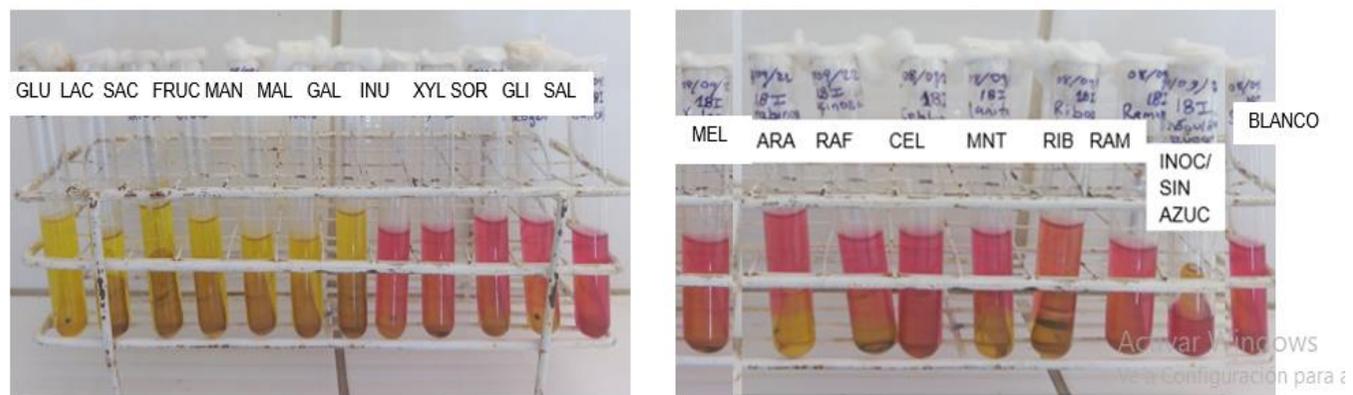


A, B: *Leuconostoc* y C, D: *Lactobacillus*; crecimiento de las colonias en medio agar Lactobacilli pH 6.5, observación microscópica con coloración Gram y aumento a 1000 X.

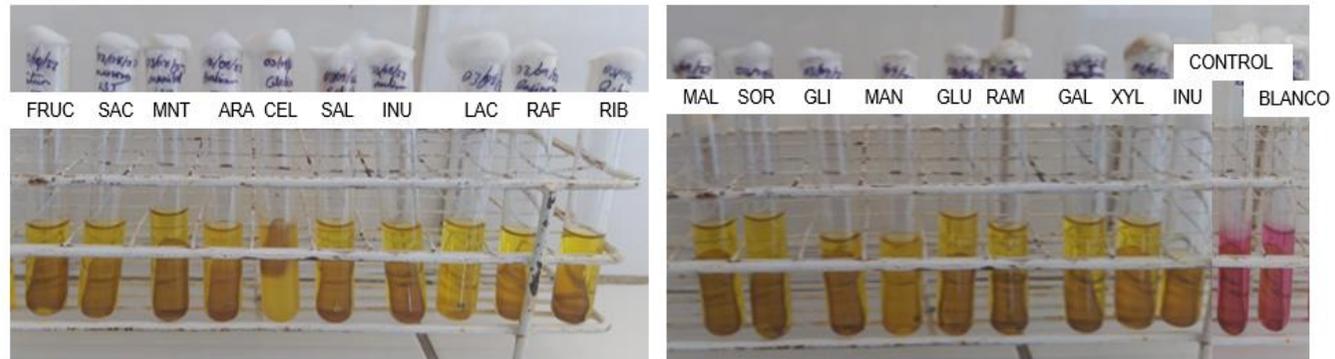
Anexo 2. Perfil de fermentación de carbohidratos de *Leuconostoc mesenteroides* aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.



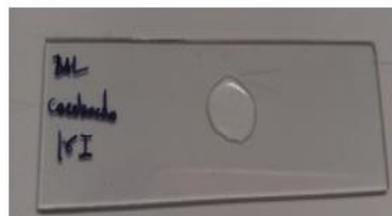
Anexo 3. Perfil de fermentación de carbohidratos de *Leuconostoc lactis* aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.



Anexo 4. Perfil de fermentación de carbohidratos de *Lactobacillus plantarum* aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.



Anexo 5. Prueba de catalasa negativo para las cepas de *Leuconostoc* y *Lactobacillus* aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.

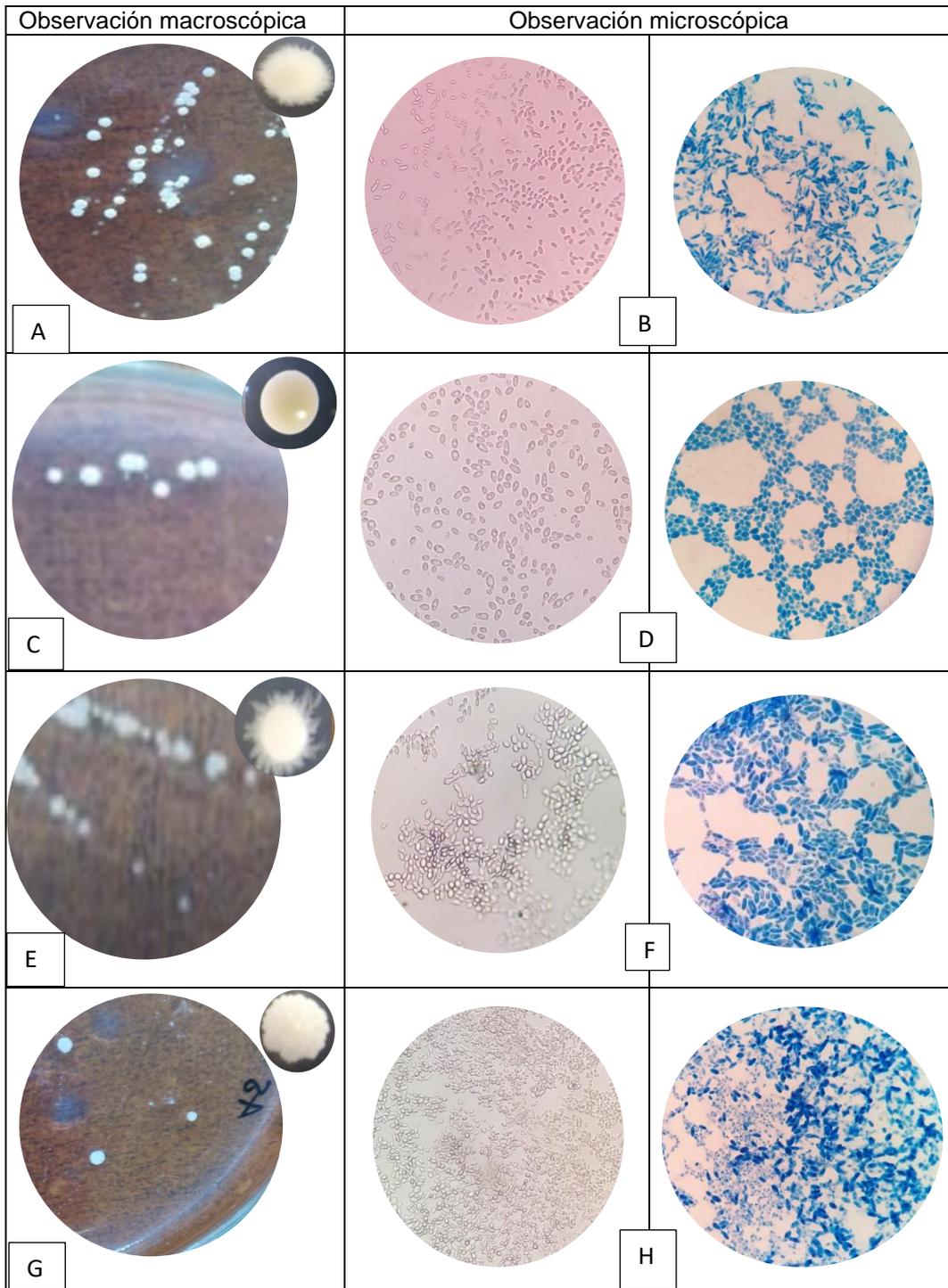


Leuconostoc



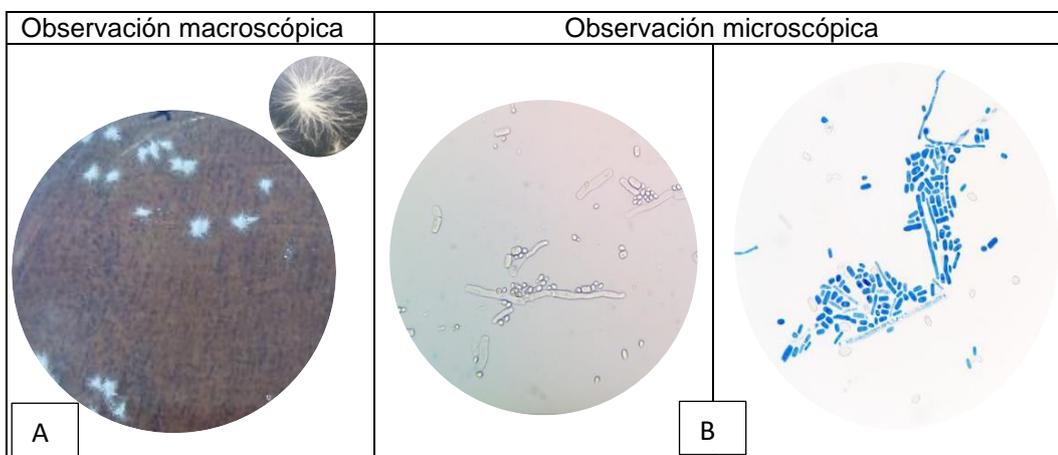
Lactobacillus

Anexo 6. Fotografías de la morfología de las colonias y observaciones microscópicas de *Saccharomyces* aislados de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.



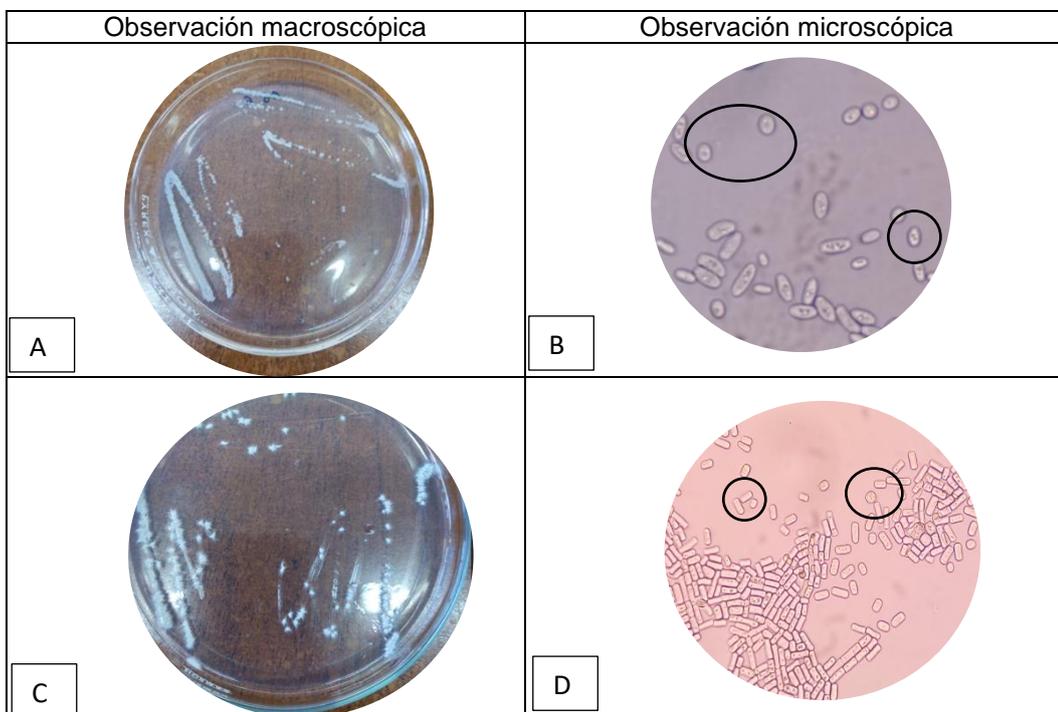
A, B: *Saccharomyces chodatii*; C, D: *Saccharomyces odessa*; E, F: *Saccharomyces kluyveri* y G, H: *Saccharomyces heterogenicus*; crecimiento de las colonias en medio Agar Sabouraud pH 6 y la observación microscópica es directa y coloración azul de metileno respectivamente con aumento de 400 X.

Anexo 7. Fotografías de la morfología de las colonias y observaciones microscópicas de *Galactomyces candidum* aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.



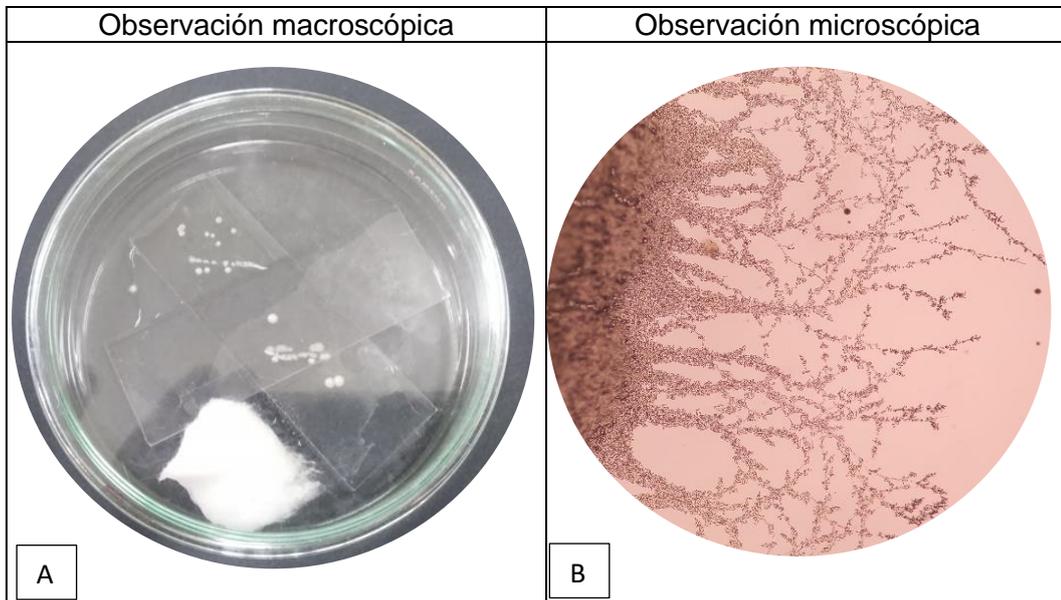
A, B: *Galactomyces candidum*; crecimiento de las colonias en medio Agar Sabouraud pH 6; la observación microscópica es directa y coloración azul de metileno respectivamente con aumento de 400 X.

Anexo 8. Ascas con esporas de las colonias típicas del género *Saccharomyces* y *Galactomyces*.



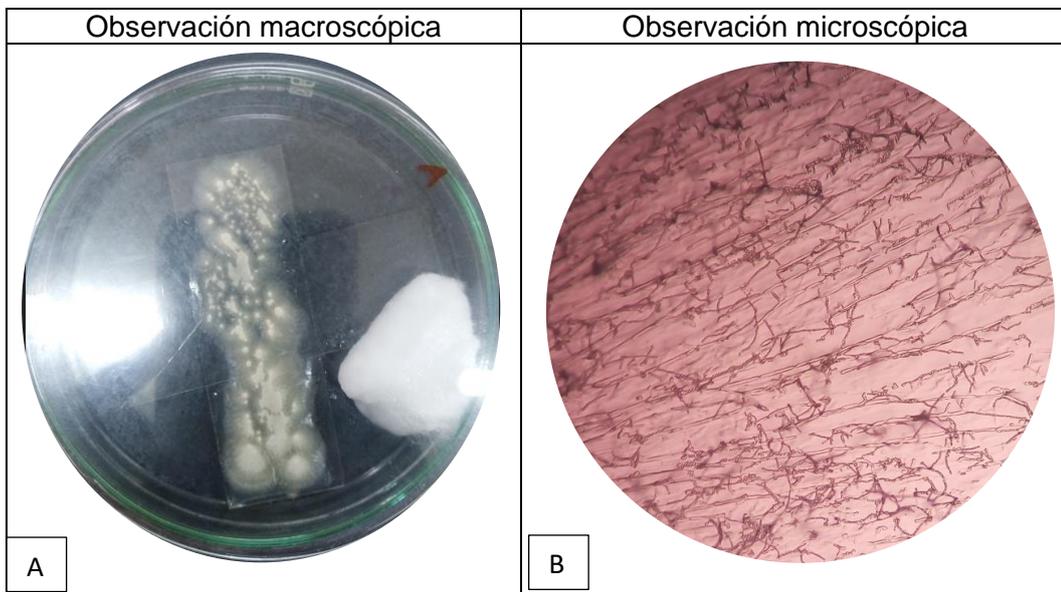
A y B: Crecimiento de las esporas en medio acetato del género *Saccharomyces*, C y D: *Galactomyces*; son de forma redonda las ascas con una a hasta cuatro esporas y la observación es a 400 X de aumento.

Anexo 9. Formación de filamentos (pseudohifas) en las cepas del género de *Saccharomyces* (*Saccharomyces chodati*, *Saccharomyces kluyveri* y *Saccharomyces heterogenicus*).



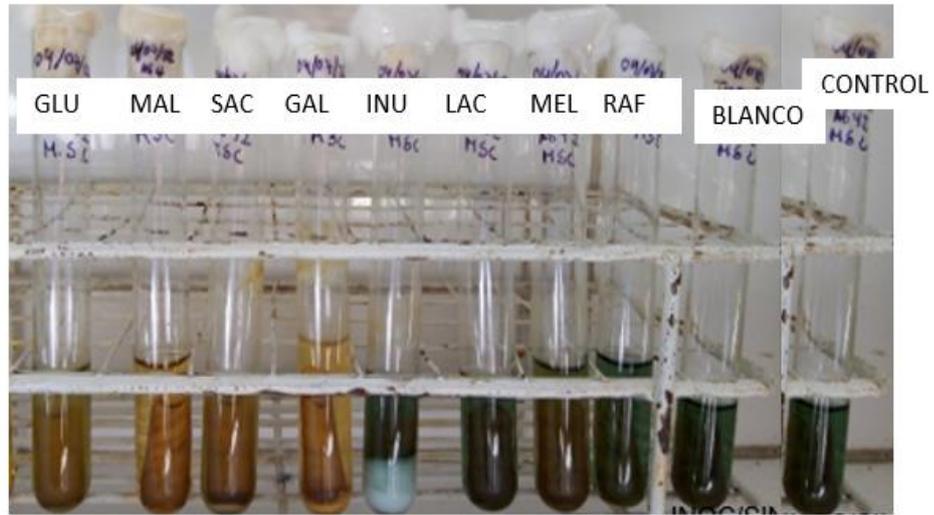
A y B: crecimiento del pseudohifas en Agar Papa Dextrosa, observación microscópica a 100 X de aumento.

Anexo 10. Formación de filamentos (hifas septadas) típico de la especie *Galactomyces candidum*.

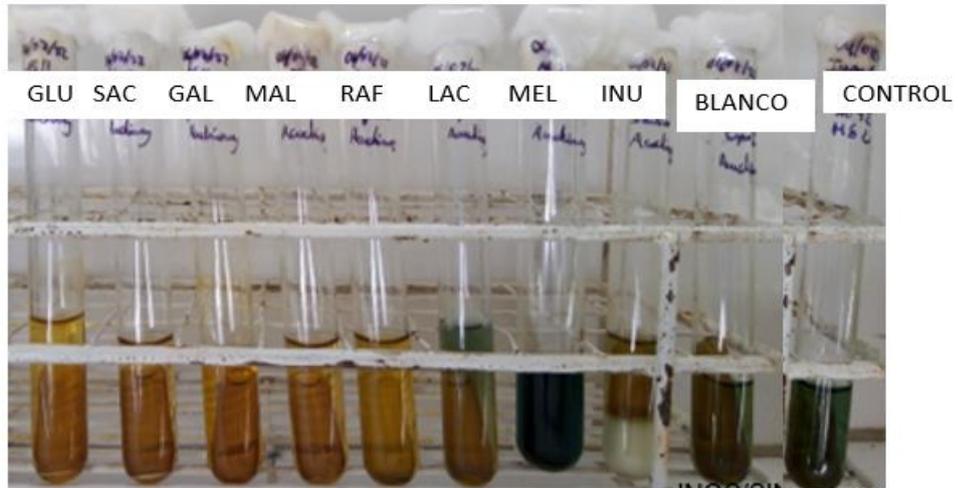


A y B: crecimiento de hifas en Agar Papa Dextrosa, observación microscópica a 100 X de aumento.

Anexo 11. Perfil de fermentación de carbohidratos de *Saccharomyces chodati* aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.



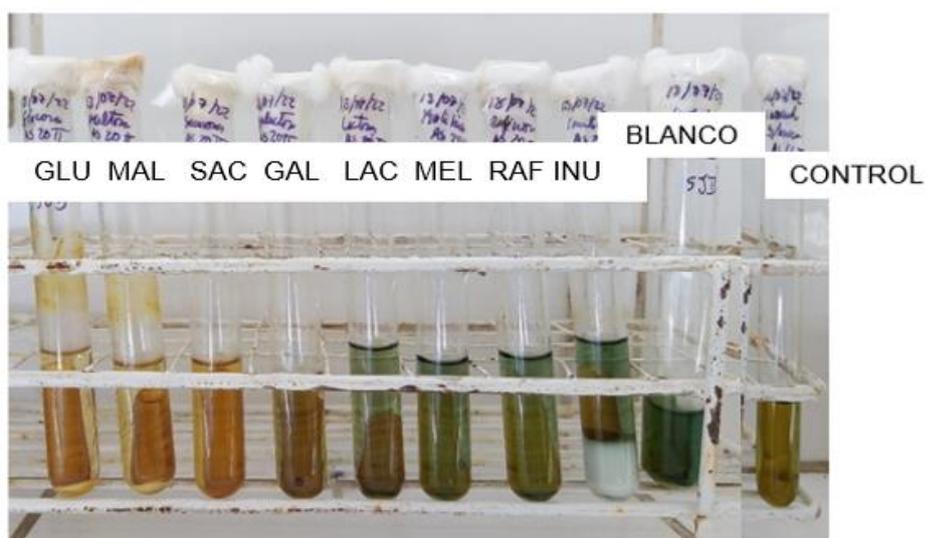
Anexo 12. Perfil de fermentación de carbohidratos de *Saccharomyces odessa* aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.



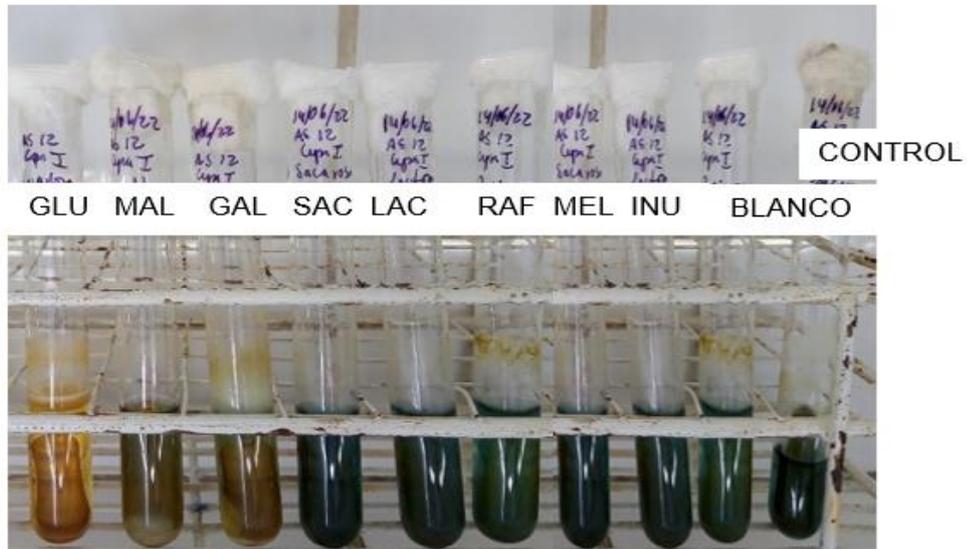
Anexo 13. Perfil de fermentación de carbohidratos de *Saccharomyces kluyveri* aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.



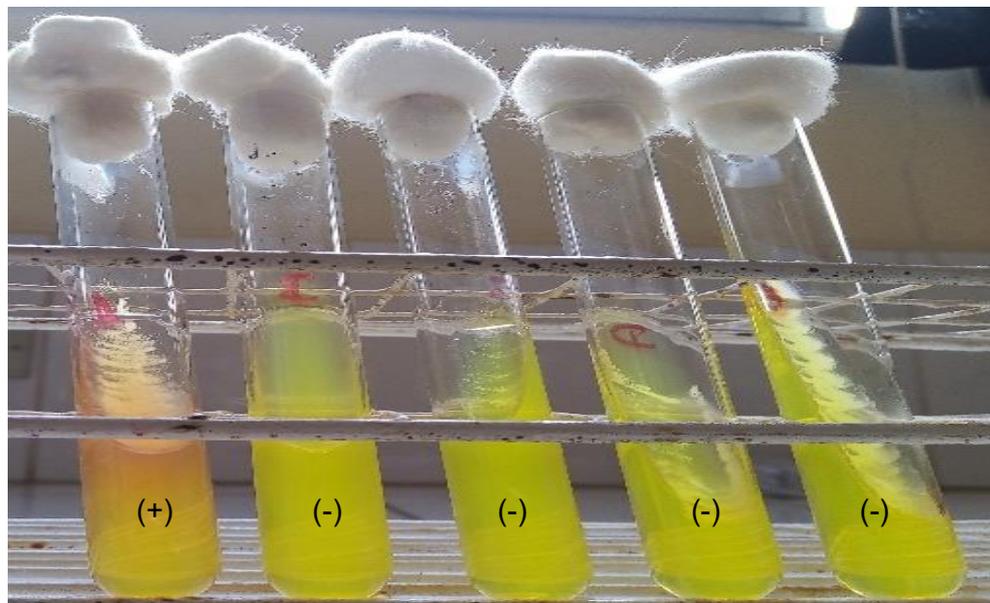
Anexo 14. Perfil de fermentación de carbohidratos de *Saccharomyces heterogenicus* aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.



Anexo 15. Perfil de fermentación de carbohidratos de *Galactomyces candidum* aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.



Anexo 16. Prueba bioquímica de hidrólisis de la urea negativo para las cepas de *Saccharomyces odessa*, *Saccharomyces kluyveri*, *Saccharomyces chodati* y *Saccharomyces heterogenicus* y positivo para las cepas de *Galactomyces candidum*.



Anexo 17. Identificación bioquímica de bacterias lácticas aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.

C E P A	CATALASA	FERMENTACIÓN DE AZÚCARES																			ESPECIE		
		G A S	G L U	S A C	F R U C	C E L	G A L	L A C	M A L	M A N I	M A N O	R A F	S A L	R I B	S O R	X Y L	R A M	A R A	I N U	G L I C		M E L	
BL-1	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	
BL-2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus plantarum</i>
BL-3	-	+	+	+	+	d	+	+	+	+	+	+	+	d	+	+	-	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	
BL-4	-	-	+	+	+	+	d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	
BL-5	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	
BL-6	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	d	+	+	-	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	
BL-7	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus plantarum</i>	
BL-8	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	
BL-9	-	+	+	+	+	d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	
BL-10	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus plantarum</i>	
BL-11	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	
BL-12	-	+	+	+	+	d	+	+	+	+	+	+	+	d	+	+	-	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	
BL-13	-	+	+	+	+	d	+	+	+	+	+	+	+	d	+	+	-	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	
BL-14	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus plantarum</i>	
BL-15	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus plantarum</i>	

BL: Bacterias Lácticas, +: positivo, -: negativo, d: reacción débil positiva.

Continua Anexo 17.

C E P A S	CATALASA	G A S	FERMENTACIÓN DE AZÚCARES																			ESPECIE
			G L U C	S A C C	F R U C	C E L L	G A L L	L A C T	M A L T	M A N I O	M A N I O	R A F I N	S A L I B	R I B I T	S O R B	X Y L	R A M	A R A B	I N V	G L I C	M E L	
BL-16	-	-	+	+	+	+	+	d	+	+	+	+	+	d	+	+	-	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-17	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus plantarum</i>
BL-18	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus plantarum</i>
BL-19	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	<i>Leuconostoc lactis</i>
BL-20	-	-	+	+	+	+	+	d	+	+	+	+	+	d	+	+	-	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-21	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus plantarum</i>
BL-22	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	d	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-23	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-24	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	<i>Leuconostoc lactis</i>
BL-25	-	+	+	+	+	+	d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-26	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-27	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	d	-	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-28	-	+	+	+	+	+	d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
BL-29	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus plantarum</i>

BL: Bacterias Lácticas, +: positivo, -: negativo, d: reacción débil positiva

Anexo 18. Característica clave de los *Leuconostoc* del grupo Homofermentativo.

Características	Especies															
	<i>L. subsp. mesenteroides</i>	<i>L. subsp. dextranicus</i>	<i>L. subsp. Cremonis</i>	<i>L. argentinum</i>	<i>L. carnosum</i>	<i>L. citreum</i>	<i>L. durionis</i>	<i>L. fallax</i>	<i>L. ficulneum</i>	<i>L. fructosum</i>	<i>L. gasicomitatum</i>	<i>L. gelidum</i>	<i>L. inhae</i>	<i>L. kimchii</i>	<i>L. lactis</i>	<i>L. pseudomesenteroides</i>
Tipo de peptidoglicano	Lys-Ser-Ala ₂	Lys-Ser-Ala ₂	Lys-Ser-Ala ₂	Lys-Ala ₂	Lys-Ala ₂	Lys-Ala ₂	ND	Lys-Ala ₂	Lys-Ala ₂	Lys-Ala ₂	Lys-Ala ₂	Lys-Ala ₂	ND	ND	Lys-Ala ₂	Lys-Ser-Ala ₂
Crecimiento a pH 4.8	-	-	-	ND	ND	ND	+	+	-	ND	ND	ND	+	ND	-	ND
Produccion de dextrano	+	+	-	-	+	ND	ND	ND	+	-	+	+	d	+	-	ND
Crecimiento a 37°C	d	+	-	+	-	d	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+
Carbohidratos fermentados:																
Amigdalina	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	-	ND	d	+	ND	ND
Arabinosa	+	-	-	d	-	+	-	-	-	-	+	+	d	+	-	d
Arbutina	d	-	-	-	-	+	-	-	ND	ND	-	+	-	ND	-	d
Celulosa	d	d	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	ND
Celobiosa	d	-	-	d	d	d	-	-	-	-	+	+	+	+	-	d
Fructosa	+	+	-	d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactosa	+	d	+	+	-	-	-	-	-	-	d	-	d	+	+	d
Lactosa	d	+	d	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	d
Maltosa	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	d	+	+	+	+
Manitol	d	-	-	d	-	d	+	d	+	+	-	-	+	+	-	-
Manosa	d	d	-	+	d	+	-	+	-	-	+	+	+	+	d	+
Melibiosas	d	d	-	+	d	-	-	-	-	-	+	+	-	-	d	d
Rafinosa	d	d	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	d	d
Ribosa	d	-	-	-	d	-	+	+	-	-	+	d	ND	+	-	+
Salicilina	d	-	-	-	d	+	-	-	ND	ND	-	+	d	+	d	d
Sacarosa	+	+	-	d	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	d
Xylosa	d	d	-	d	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+

Símbolos y abreviaturas: +, 90% o más de las cepas son positivas; -, el 90% o más son negativas; d, 11 a 89% de las cepas son positivas débil; ND, no hay datos disponibles.. Fuente: datos tomados de Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Kreig, N., Ludwig, W., Rainey, F., Schleifer, K-H. y Whitman, W. (2009)

Anexo 19. Características clave de los *Lactobacillus* del grupo Heterofermentativo.

Características	Especies																	
	<i>L. hamsteri</i>	<i>L. homohiochii</i>	<i>L.L. intestinalis</i>	<i>L. jensenii</i>	<i>L. kimchii</i>	<i>L. murinus</i>	<i>L. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	<i>L. paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	<i>L.</i> <i>paralimentarius</i>	<i>L.</i> <i>paraplantarum</i>	<i>L. pentosus</i>	<i>L. perolens</i>	<i>L. plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	<i>L. plantarum</i> subsp. <i>argenteratensis</i>	<i>L. rhamnosus</i>	<i>L. sakei</i> subsp. <i>sakei</i>	<i>L. sakei</i> subsp. <i>carnosus</i>	
Tipo de peptidoglicano	Lys-D-Asp	Lys-D-Asp	Lys-D-Asp	Lys-D-Asp	Lys-D-Asp	Lys-D-Asp	Lys-D-Asp	Lys-D-Asp	Lys-D-Aspb	mDpm	mDpm	Lys-D-Asp	mDpm	mDpm	Lys-D-Asp	Lys-D-Asp	Lys-D-Asp	
Contenido de G+C(% en moles)	33-35	35-38	33-35	35-37	35	43-44	45-47	45-47	37-38	44-45	46.47	49-53	44-46	44-46	45-47	42-44	42-44	
Isómero(s) de ácido láctico	d	sl	sl	sl	sl	d	dl	d	ND	sl	sl	d	sl	sl	d	sl/l(d)	sl/l(d)	
Crecimiento a 15/45 °C	-/ND	+/-	-/+	-/+	+/-	-/+	+/d	+/-	+/+	+	-	+	-	-	+	+	+	
Carbohidratos fermentados:																		
Amigdalina	ND	-	-	+	+	d	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	
Arabinosa	+	-	-	-	+	+	-	-	-	d	+	d	d	d	d	d	d	
Celobiosa	+	d	d	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	d	d	
Esculina	+	ND	-	+	+	+	+	-	+	+	ND	+	+	+	+	+	+	
Gluconato	+	-	ND	-	+	-	+	W	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
Manitol	+	d	+	d	-	d	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	
Melicitol	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	d	+	+	-	+	-	-	
Melibiosa	+	-	d	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	
Rafinosa	+	-	d	-	-	+	-	-	-	d	+	+	+	+	-	-	-	
Ribosa	+	d	d	d	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	
Sorbitol	+	-	-	-	-	-	d	-	-	d	+	d	+	+	+	-	-	
Sacarosa	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Xylosa	d	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	d	d	d	-	-	-	

Simbolos y abreviaturas: +, 90% o más de las cepas son positivas; -, el 90% o más son negativas; d, 11 a 89% de las cepas son positivas débil; ND, no hay datos disponibles, los isómeros entre paréntesis indica menor de 155 del ácido láctico total; mDpm, ácido meso-diaminopimélico; de grupo *Lactobacillus delbrueckii*; sl, grupo *Lactobacillus salivarius*; re, grupo *Lactobacillus reuteri*; u, único. Fuente: datos tomados de Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Kreig, N., Ludwig, W., Rainey, F., Schleifer, K-H. y Whitman, W. (2009)

Anexo 20. Identificación bioquímica de levaduras aisladas de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.

CEP A	FERMENTACIÓN DE AZÚCARES										ESPECIE
	GA S	GLU	GAL	SAC	MALT	LAC	RAF	MEL	INU	UREA	
L-1	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	<i>Galactomyces candidum</i>
L-2	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	<i>Saccharomyces chodati</i>
L-3	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-4	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	<i>Saccharomyces kluyveri</i>
L-5	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	<i>Saccharomyces kluyveri</i>
L-6	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-7	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	<i>Saccharomyces chodati</i>
L-8	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	<i>Galactomyces candidum</i>
L-9	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>
L-10	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	<i>Saccharomyces chodati</i>
L-11	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-12	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	<i>Galactomyces candidum</i>
L-13	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-14	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>
L-15	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-16	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>
L-17	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	<i>Galactomyces candidum</i>
L-18	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-19	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-20	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	<i>Galactomyces candidum</i>
L-21	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-22	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-23	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	<i>Galactomyces candidum</i>
L-24	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-25	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>
L-26	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-27	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	<i>Saccharomyces chodati</i>
L-28	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-29	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-30	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	<i>Saccharomyces kluyverii</i>
L-31	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-32	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>
L-33	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	<i>Saccharomyces chodati</i>
L-34	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-35	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-36	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>
L-37	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	<i>Saccharomyces chodati</i>
L-38	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-39	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	<i>Saccharomyces odessa</i>
L-40	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	<i>Saccharomyces chodati</i>

L: Levaduras, +: positivo, -: negativo.

Anexo 21. Característica clave de los Saccharomyces.

Características	Especies																
	<i>S. barnetti</i>	<i>S. bayanus</i>	<i>S. chodatii</i>	<i>S. castellii</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. heterogenicus</i>	<i>S. daerenensis</i>	<i>S. exiguus</i>	<i>S. kluyveri</i>	<i>S. odessa</i>	<i>S. paradaxus</i>	<i>S. pastorianus</i>	<i>S. rosinii</i>	<i>S. servazii</i>	<i>S. spencerorum</i>	<i>S. transvaalensis</i>	<i>S. unisporus</i>
Cich 1000ppm	-	-	-	-	-	-	-	v	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Fuente de nitrógeno	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	Cad- Ety-Lys	-	-	-	-	Cad- Ety-Lys
Crecimiento a 30/40 °C	-/-	+/-	+/+	+/v	+/v	+/+	+/v	+/-	+/+	+/+	+/-	+/+	+/+	+/-	-/-	+/-	+/+
Carbohidratos fermentados:																	
Glucosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactosa	+	v	+	+	v	+	+	+	+	+	+	v	+	+	+	+	+
Sacarosa	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	v	-	-	+	-	-
Maltosa	-	+	+	-	v	-	-	-	+	+	v	+	-	-	-	-	-
Lactosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rafinosa	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Inulina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Melibiosa	-	v	-	-	v	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Abreviaturas y símbolos: Cad, cadaverina-2HCl; Ety, etilamina-HCl; Lys, L- lisina, Cich 1000, indicación resistente a 1000ppm cicloheximida en el medio; +, positivo; -, negativo; w, débil; v, variable. Fuente: de Hernández (1964); Kurtzman y Fell (1998)

Anexo 22. Característica clave del género *Galactomyces*.

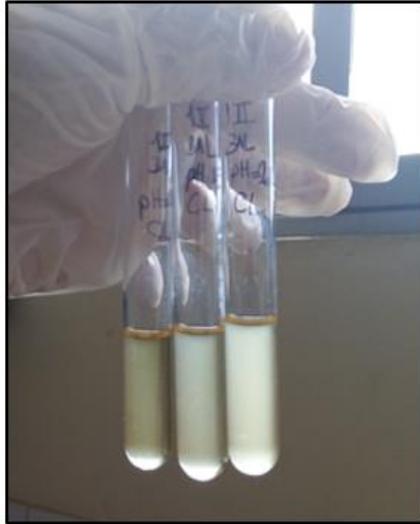
Características	Especies				
	<i>G. citri.aurantii</i>	<i>G. geotrichum</i>	<i>G. ressi</i>	<i>G. candidum</i>	<i>G. pseudocandidum</i>
Asimilación de nitrato	-	-	-	-	-
Ureasa	n	n	n	+	-
Formación de hifas	+	+	+	+	+
Crecimiento a 19/45 °C	+/-	+/-	+/-	+/v	+/-
Carbohidratos fermentados:					
Glucosa	-	v	v	+	-
Galactosa	-	v	-	-	-
Sacarosa	-	-	-	-	-
Maltosa	-	-	-	-	-
Lactosa	-	-	-	-	-
Rafinosa	-	-	-	-	-
Inulina	-	-	-	-	-
Melibiosa	-	-	-	-	-
Trehalosa	-	n	n	n	-

Abreviaturas y símbolos: +, positivo; -, negativo; w, débil; v, variable (+/-, w/-), n; sin datos. Fuente: de Kurtzman y Fell (1998)

Anexo 23. Identificación de bacterias lácticas y levaduras de los lugares de procedencia de la chicha de molle artesanal elaborada en la provincia de Huamanga, Ayacucho 2022.

Nº de muestras	Lugar de muestras	Bacterias lácticas		Código de cepas		
				Levaduras		
1		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Galactomyces candidum</i>	<i>Saccharomyces chodati</i>	<i>Saccharomyces odessa</i>
2	Santa Bárbara (Tambillo)	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>		<i>Saccharomyces kluyveri</i>		
3		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>		<i>Saccharomyces kluyveri</i>	<i>Saccharomyces odessa</i>	
4		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>		<i>Saccharomyces chodati</i>		
5		Merc. Santa Clara	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Galactomyces candidum</i>	
6		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>		<i>Saccharomyces heterogenicus</i>	<i>Saccharomyces chodati</i>	<i>Saccharomyces odessa</i>
7		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>		<i>Galactomyces candidum</i>	<i>Saccharomyces odessa</i>	
8	Huascaura	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>		<i>Saccharomyces odessa</i>
9		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>		<i>Saccharomyces heterogenicus</i>	<i>Galactomyces candidum</i>	
10		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>		<i>Saccharomyces odessa</i>		
11			<i>Lactobacillus plantarum</i>		<i>Saccharomyces odessa</i>	
12	Acuchimay (Mirador)	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Galactomyces candidum</i>	<i>Saccharomyces odessa</i>	
13		<i>Lactobacillus plantarum</i>		<i>Saccharomyces odessa</i>	<i>Galactomyces candidum</i>	
14		<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Leuconostoc lactis</i>	<i>Saccharomyces odessa</i>	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>	
15	Pacaycasa (Orcasitas)	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>		<i>Saccharomyces odessa</i>		
16		<i>Lactobacillus plantarum</i>		<i>Saccharomyces chodati</i>	<i>Saccharomyces odessa</i>	
17		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>		<i>Saccharomyces odessa</i>	<i>Saccharomyces kluyveri</i>	
18	Jesús Nazareno (Feria)	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Leuconostoc lactis</i>	<i>Saccharomyces odessa</i>	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>	
19		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>		<i>Saccharomyces chodati</i>	<i>Saccharomyces odessa</i>	
20	San Juan Bautista (Feria)	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>		<i>Saccharomyces odessa</i>	<i>Saccharomyces heterogenicus</i>	
21		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>		<i>Saccharomyces chodati</i>	<i>Saccharomyces odessa</i>	
22		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Saccharomyces odessa</i>	<i>Saccharomyces chodati</i>	
TOTAL		29		40		

Anexo 24. Comportamiento del caldo Lactobacilli a pH ácido 1.0, 1.5 y 2.0 de cepas de bacterias lácticas aisladas de la chicha de molle y control sin inóculo.



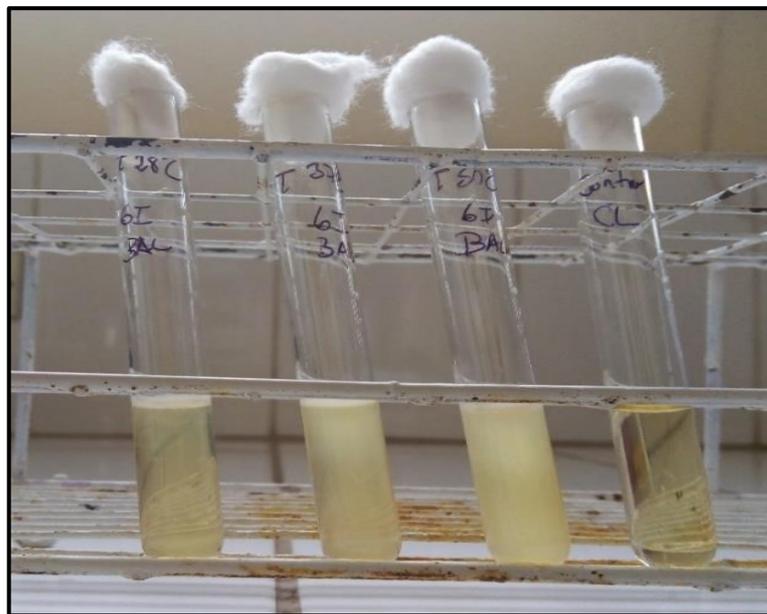
Anexo 25. Comportamiento del jugo gástrico artificial a pH 2 a 3 y control con inóculo a pH 6.5 a 7 de cepas de bacterias lácticas aisladas de la chicha de molle y control sin inóculo.



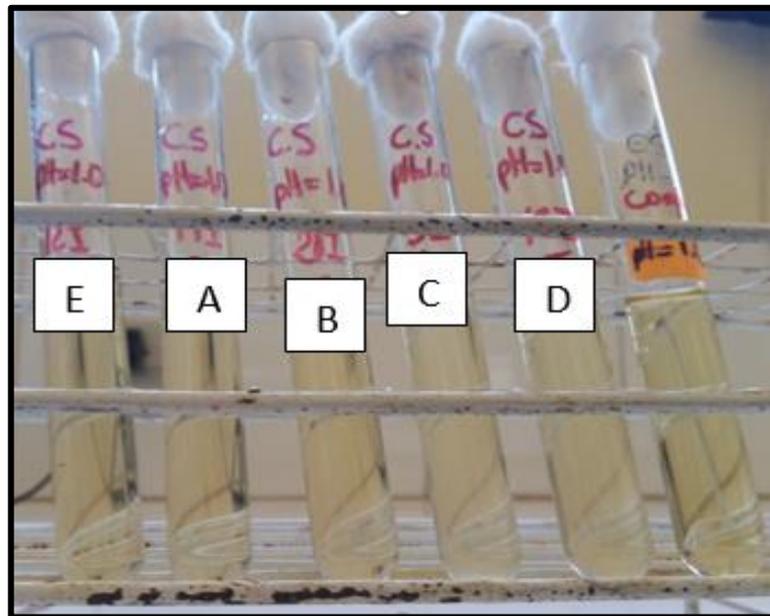
Anexo 26. Comportamiento de caldo Lactobacilli con bilis al 0.05, 0.1, 0.15, y 0.3 % de cepas de bacterias lácticas aisladas de la chicha de molle y control sin inóculo.



Anexo 27. Comportamiento de caldo Lactobacilli a pH 6.5 a diferentes temperaturas (28, 37 y 50 °C) de cepas de bacterias lácticas de la chicha de molle y control sin inóculo.

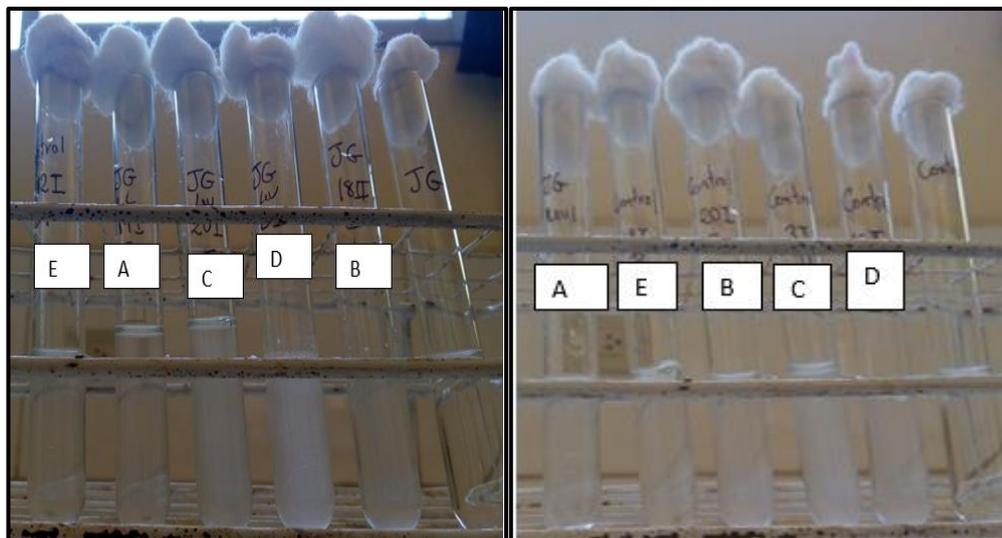


Anexo 28. Comportamiento del caldo Sabouraud a pH ácido 1.0, 1.5 y 2.0 de cepas de levaduras aisladas de la chicha de molle y control sin inóculo.



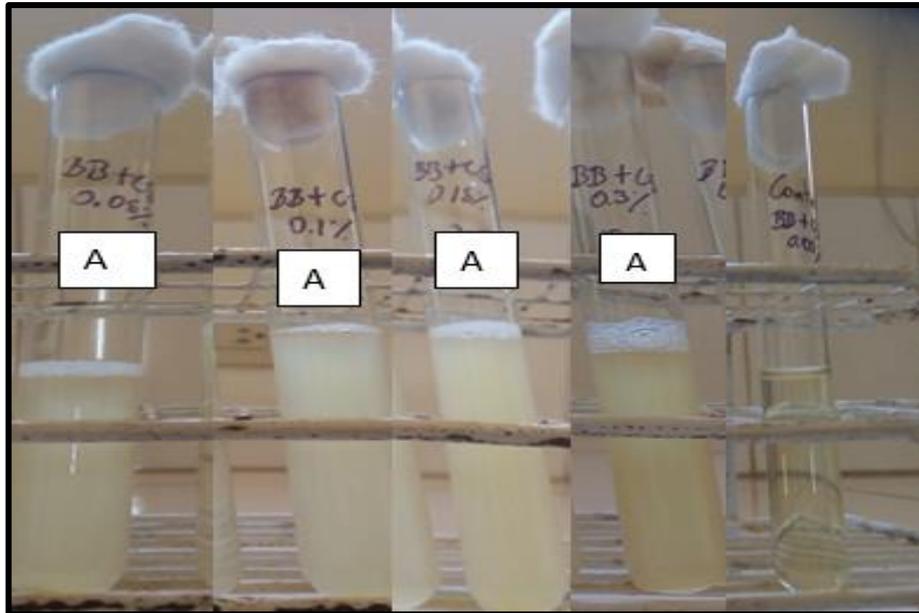
A: *Saccharomyces chodati*, B: *Saccharomyces odessa*, C: *Saccharomyces heterogenicus*, D: *Saccharomyces kluyveri* y E: *Galactomyces candidum*.

Anexo 29. Comportamiento del jugo gástrico artificial a pH 2 a 3 y control con inóculo con pH 6.5 a 7 de cepas de levaduras aisladas de la chicha de molle y control sin inóculo.



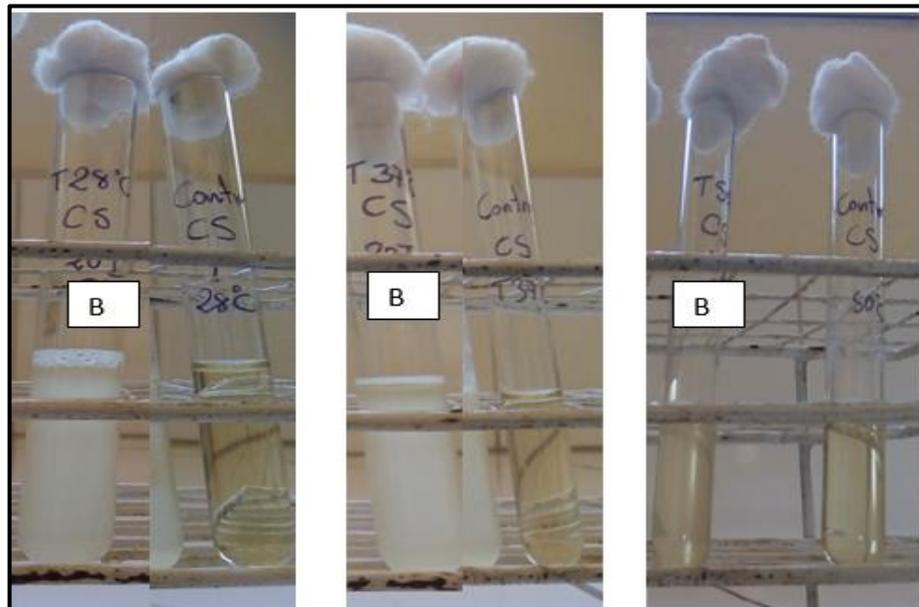
A: *Saccharomyces chodati*, B: *Saccharomyces odessa*, C: *Saccharomyces heterogenicus*, D: *Saccharomyces kluyveri* y E: *Galactomyces candidum*.

Anexo 30. Comportamiento del caldo Sabouraud con bilis al 0.05, 0.1, 0.15 y 0.3 % de cepas levaduras aisladas de la chicha de molle y control sin inóculo.



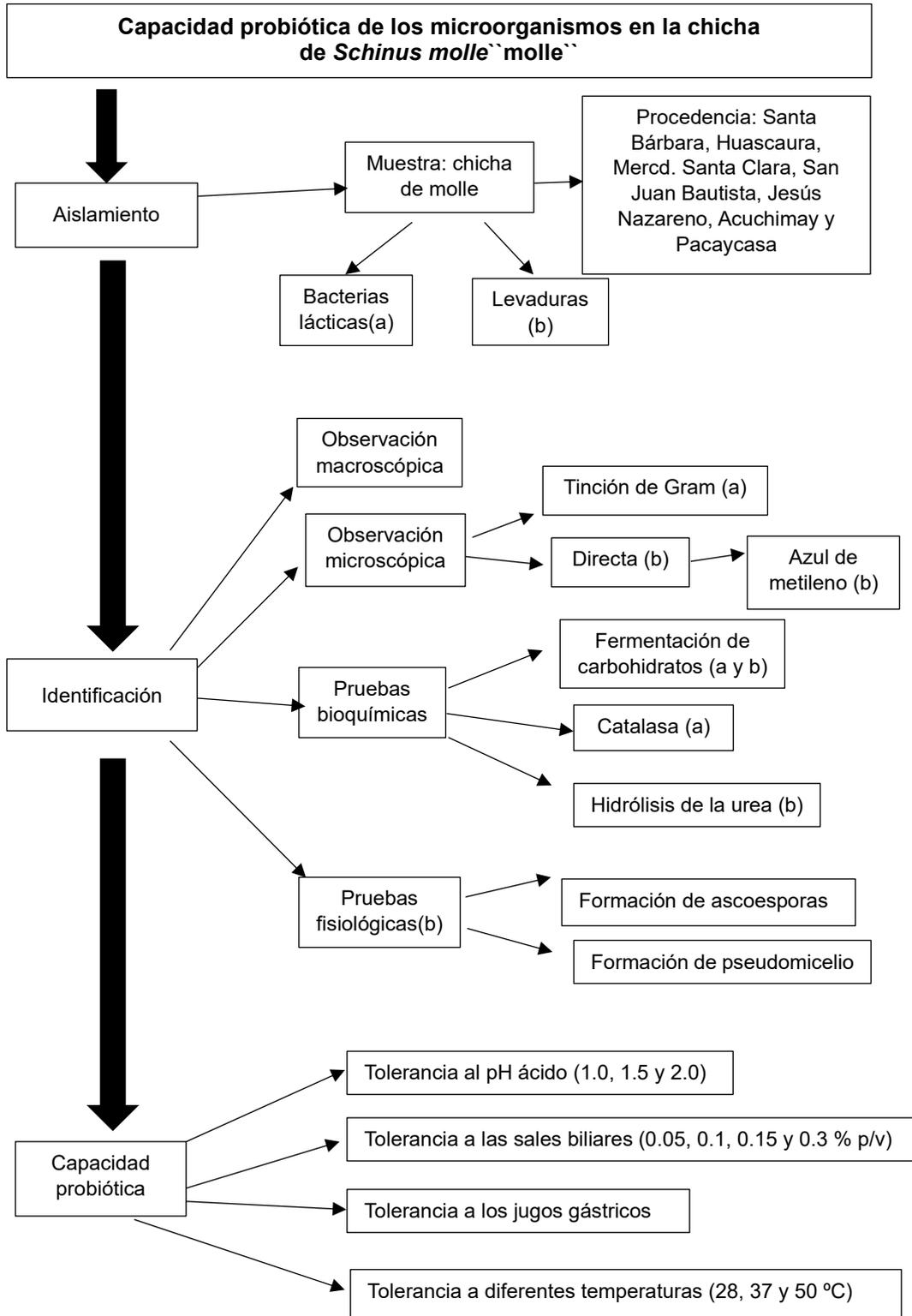
A: *Saccharomyces chodati*.

Anexo 31. Comportamiento de caldo Sabouraud con pH 6.5 a diferentes temperaturas (28, 37 y 50 °C) de cepas levaduras de la chicha de molle y control sin inóculo.



B: *Saccharomyces odessa*.

Anexo 32. Flujograma de investigación.



Anexo 33. Composición de medios empleados.

Agar lactobacilli	Medio base de fermentación para bacterias
Peptona 15 g/L Extracto de levadura 5 g/L Sacarosa 10 g/L Jugo de tomate 5 mL Fosfato monopotásico 2 g/L Agar 15 g/L pH 6,8 ± 0,2 Fuente: Quispe (2021)	Peptona 10 g/L Extracto de carne(opcional) 1 g/L Rojo de fenol 0,0018 g/L Cloruro de sodio 5 g/L pH 7,4 ± 0,2 Fuente: Cardenas (2016)
Agar Sabouraud	Agar YM (Yeast Medium)
Peptona 10 g/L Glucosa 40 g/L Agar 15 g/L pH 5,6 ± 0,2 Fuente: Kurtzman et al. (1998)	Extracto de malta 3 g/L Peptona 5 g/L Glucosa 10g/L Agar 20 g/L pH 5,6±0,2 Fuente: Kurtzman et al. (1998)
Medio base de fermentación para levaduras	Medios para la esporulación
Extracto de levadura 4,5 g/L Peptona 7,5 g/L pH 5,6±0,2 Solución base de azul de bromotimol Azul de bromotimol 50 mg Agua destilada estéril 75mL Fuente: Kurtzman et al. (1998)	Medio YPD (Pre-esporulación) Extracto de levadura 10 g/L Peptona 30 g/L Glucosa 50 g/L Agar 20 g/L pH 5,6±0,2 Agar acetato (Esporulación) Acetato de sodio 10 g/L Extracto de levadura 2,5 g/L Glucosa 1 g/L Agar 18 g/L pH 7,5 ±0,2 Fuente: Kurtzman et al. (1998)
Agar Papa Dextrosa	Agar urea Christensen
Extracto de papas 4 g/L Dextrosa 20 g/L Agar 15 g/L pH 5,6 ± 0,2 Fuente: Kurtzman et al. (1998)	Peptona 1 g/L Dextrosa 1 g/L Cloruro de sodio 5 g/L Fosfato monopotásico 0.8 g/L Rojo fenol 0.012 g/L Agar 15 g/L pH 6,8 ± 0,2 Al esterilizar y enfriar agregar 50 mL de urea al 40 % Fuente: Agar urea Christensen (2021)

Anexo 34. Matriz de consistencia.

Título : Capacidad probiótica de los micoorganismos en la chicha de *Schinus molle* ``molle``.
Autor : Jessuly Minorka Alagón Quispe
Asesor : Paula García Godos Alcázar

PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGÍA
¿Existirá capacidad probiótica de los microorganismos en la chicha de <i>Schinus molle</i> "molle"?	<p>GENERAL Evaluar la capacidad probiótica de los microorganismos en la chicha de <i>Schinus molle</i> "molle".</p> <p>ESPECÍFICOS</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aislar los microorganismos en la chicha de <i>Schinus molle</i> "molle". • Identificar los microorganismos probióticos en la chicha de <i>Schinus molle</i> "molle". • Determinar la capacidad probiótica de los microorganismos en la chicha de <i>Schinus molle</i> "molle". 	2.1. Antecedentes 2.2. Microbiología de la chicha de <i>Schinus molle</i> "molle" 2.3. Microorganismos probióticos 2.4. Probióticos 2.5. Capacidad probiótica 2.6. <i>Schinus molle</i> "molle"	Existe capacidad probiótica de los microorganismos en la chicha de <i>Schinus molle</i> "molle".	<p>VARIABLE INDEPENDIENTE Microorganismos en la chicha de <i>Schinus molle</i> "molle" Indicadores</p> <ul style="list-style-type: none"> • Presencia de bacterias • Presencia de levaduras <p>VARIABLE DEPENDIENTE Capacidad probiótica Indicadores</p> <ul style="list-style-type: none"> • Tolerancia a la acidez • Tolerancia a las sales biliares • Tolerancia a jugos gástricos • Crecimiento a diferentes temperaturas (28, 37 y 50 °C) 	<p>DISEÑO DE INVESTIGACIÓN Aplicada</p> <p>NIVEL DE INVESTIGACIÓN Exploratorio</p> <p>MUESTRA 22 chichas de "molle " de lugares elaborados artesanalmente en la provincia de Huamanga.</p> <p>TÉCNICAS</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aislamiento • Identificación fisiológica y bioquímica • Capacidad probiótica. <p>ANÁLISIS ESTADÍSTICO Por ser del nivel exploratorio no se realizó pruebas paramétricas ni significancia pero se detalló los resultados en tablas y figuras.</p>



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS Bach. JESSULY MINORKA ALAGON QUISPE RESOLUCIÓN DECANAL N° 027-2024-UNSCH-FCB-D

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cinco de la tarde del veinticinco de enero del año dos mil veinticuatro; se reunieron los miembros del Jurado Evaluador en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, presidido por el Dr. Saturnino Martín TENORIO BAUTISTA; Dra. Roberta Brita ANAYA GONZÁLEZ (Miembro-Jurado); Dr. José ALARCÓN GUERRERO (Miembro-Jurado); Dra. Nilda Aurea APAYCO ESPINOZA (Miembro-Jurado); Mg. Paula GARCÍA GODOS ALCÁZAR (Miembro-Asesor); actuando como secretario docente el Mg. Jime Jack RIVERA VILLAR; para presenciar la sustentación de tesis titulada: **Capacidad probiótica de los microorganismos en la chicha de *Schinus molle* "molle"**; presentado por la Bach. JESSULY MINORKA ALAGON QUISPE; el Presidente luego de verificar la documentación presentada, indicó al secretario docente dar lectura a la documentación generada que refrenda el presente acto académico, luego de ello dispuso el inicio al acto de sustentación, indicando a la sustentante que dispone de cuarenta y cinco minutos para exponer su trabajo de investigación tal como establece el Reglamento de Grados y Títulos de la Escuela Profesional de Biología. Culminada la exposición, el Presidente invitó a cada uno de los Miembros del Jurado a participar con sus observaciones, sugerencias y preguntas a la sustentante. Culminada esta etapa, el presidente invitó a la sustentante y al público asistente a abandonar momentáneamente el Auditorio para que los miembros del jurado evaluador puedan realizar las deliberaciones y calificaciones; cuyos resultados son los que se consignan a continuación:

Miembros del Jurado Evaluador	Exposición	Respuesta/preguntas	Promedio
Dra. Roberta Brita ANAYA GONZÁLEZ	17	15	16
Dr. José ALARCÓN GUERRERO	17	16	17
Dra. Nilda Aurea APAYCO ESPINOZA	17	16	17
PROMEDIO			17

La sustentante alcanzó el promedio de 17 aprobatorio. Acto seguido, el presidente autorizó el ingreso de la sustentante y el público al Auditorio dando a conocer los resultados e indicando que de este modo se da por finalizado el presente acto académico, siendo las siete y quince de la noche; firmando al pie del presente en señal de conformidad.

Dr. Saturnino Martín TENORIO BAUTISTA
Presidente

Dra. Roberta Brita ANAYA GONZÁLEZ
Miembro - Jurado

Dr. José ALARCÓN GUERRERO
Miembro - Jurado

Dra. Nilda Aurea APAYCO ESPINOZA
Miembro - Jurado

Mg. Paula GARCÍA GODOS ALCÁZAR
Miembro - Asesor

Mg. Jime Jack RIVERA VILLAR
Secretario Docente



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

DECANATURA - ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS

N° 28-2024-FCB-D

Yo, VÍCTOR LUIS CÁRDENAS LÓPEZ, Director de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga; autoridad encargada de verificar la tesis titulada: **Capacidad probiótica de los microorganismos en la chicha de Schinus molle "molle" por JESSULY MINORKA ALAGON QUISPE**; he constatado por medio del uso de la herramienta TURNITIN, procesado CON DEPÓSITO, una similitud de 15%, grado de coincidencia, menor a lo que determina la ausencia de plagio definido por el Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la UNSCH, aprobado con Resolución del Consejo Universitario N° 039-2021-UNSCH-C.

En tal sentido, la tesis cumple con las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Se acompaña el INFORME FINAL DE TURNITIN correspondiente.

Ayacucho, 12 de marzo de 2024.

 UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA


Dr. Víctor Luis Cárdenas López
DIRECTOR

Capacidad probiótica de los microorganismos en la chicha de Schinus molle "molle"

por JESSULY MINORKA ALAGON QUISPE

Fecha de entrega: 12-mar-2024 12:37p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2318734018

Nombre del archivo: -_Jessuly_Minorka_-_pregrado_Tesis_-_2024_TURNITIN_word_1.docx (236.95K)

Total de palabras: 12417

Total de caracteres: 65230

Capacidad probiótica de los microorganismos en la chicha de Schinus molle "molle"

INFORME DE ORIGINALIDAD

15%	15%	3%	6%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	4%
2	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Trabajo del estudiante	4%
3	sqperu.org.pe Fuente de Internet	2%
4	bn.prefectura.mai.gov.ro Fuente de Internet	1%
5	repositorio.usfq.edu.ec Fuente de Internet	1%
6	bdigital.unal.edu.co Fuente de Internet	1%
7	acikbilim.yok.gov.tr Fuente de Internet	<1%
8	www.roaep.ro Fuente de Internet	<1%

9

George J. Banwart. "Basic Food Microbiology",
Springer Nature, 1998

Publicación

<1 %

10

docplayer.es

Fuente de Internet

<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 30 words

Excluir bibliografía

Activo