

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



Optimización de parámetros para la producción y  
envasado de chicha de *Schinus molle*, "molle".  
Ayacucho. 2008

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE**  
**BIÓLOGO**  
**ESPECIALIDAD MICROBIOLOGÍA**

**PRESENTADO POR:**  
**Bach. JUÁREZ ROJAS, Freddy**

**AYACUCHO, PERÚ**

**2011**

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS R. D. N. 136-2013-FCB-D

### Bach. Freddy Juárez Rojas


En la ciudad de Ayacucho, siendo el día jueves doce del mes de setiembre del año dos mil trece, a las cuatro y veinte minutos de la tarde, se reunieron en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, los miembros del Jurado Calificador del acto de sustentatorio bajo la presidencia del Dr. Víctor Humberto Alegría Valeriano (e) e integrado por los docentes miembros: Ing. Jesús Paniagua Segovia, Mg. Paula García Godos Alcázar, Blga. Sonia Haydeé Palomino Felices y actuando como secretaria docente la Blga. Rosa Cortez Saavedra, en mérito a la R. D. N. 136-2013-FCB-D de fecha 23 de agosto del 2013, quienes recepcionaron la sustentación de la tesis titulada: "Optimización de parámetros para la producción y envasado de chicha de *Schinus molle*, "molle" Ayacucho, 2008", presentada por el bachiller en Ciencias Biológicas Freddy Juárez Rojas de la Escuela de Formación Profesional de Biología, quien pretende optar el título profesional de Biólogo con especialidad en Microbiología. Luego de verificar la documentación correspondiente, el Sr. Presidente del Jurado Calificador (e) indicó al Sr. Sustentante que tiene un tiempo de cuarenta y cinco minutos para exponer su trabajo de investigación tal como lo dispone el Reglamento.

Concluida la exposición del trabajo de investigación, el Sr. Presidente encargado invitó a los miembros del Jurado Calificador a solicitar las aclaraciones, preguntas u observaciones que crean por conveniente para realizar la evaluación correspondiente.

Concluida esta etapa, el Sr, Presidente (e) del Jurado Calificador invitó al Sr Sustentante y al público asistente a abandonar momentáneamente las instalaciones del Auditorio para que los miembros del Jurado Calificador pueda deliberar y calificar el trabajo de investigación en privado. Arribándose a los siguientes resultados:

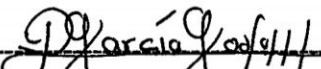
MIEMBRO JURADO	EXP.	RPTA A PREGUNTAS	PROMEDIO
Dr. Víctor Alegría Valeriano	17	16	17
Ing. Jesús Paniagua Segovia	15	14	15
Mg. Paula García Godos Alcázar	19	19	19
Blga. Sonia H. Palomino Felices	16	15	16
		PROMEDIO	17

Luego de concluida la etapa de evaluación, el Sr. Sustentante obtuvo la calificación promedio de: DIECISIETE (17) de la cual dan fe los miembros del Jurado Calificador estampando su firma al pie de la presente acta, Siendo las seis y quince de la tarde, se dio por concluida el presente acto académico.



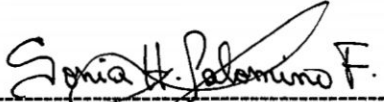
---

Dr. Víctor Alegría Valeriano  
Presidente (e) miembro




---

Mg. Paula García Godos Alcázar  
(Miembro- Asesora)



---

Blga. Sonia H. Palomino Felices  
(Miembro)



---

Ing. Jesús Paniagua Segovia  
(Miembro)



---

Blga. Rosa Cortez Saavedra  
(Secretaria Docente)

*Con cariño y amor a mi familia, mis  
padres, mis tíos, amigos y  
Maestros.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Mi más profundo agradecimiento a la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por haberme brindado las enseñanzas durante mi formación profesional.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, especialmente a los docentes de la Escuela de Formación Profesional de Biología por sus esfuerzos y dedicación en el proceso de enseñanza – aprendizaje.

A la Mg. Paula García Godos Alcázar, al personal técnico y asistencial del laboratorio de Biotecnología de la Escuela de Formación Profesional de Biología por las facilidades y apoyo brindado en la ejecución del presente trabajo de investigación.

## ÍNDICE GENERAL

	<i>Página</i>
DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTOS	III
ÍNDICE GENERAL	IV
ÍNDICE DE TABLAS	VI
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
ÍNDICE DE ANEXOS	VIII
RESUMEN	IX
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	2
2.1. Antecedentes	2
2.2. <i>Schinus molle</i> "molle"	4
2.2.1. Clasificación taxonómica	5
2.2.2. Nombre común	5
2.2.3. Distribución	5
2.2.4. Descripción	5
2.2.5. Materia prima para la chicha de "molle"	6
2.2.6. Composición Química	6
2.2.7. Usos y propiedades de la chicha de "molle"	6
2.2.8. Preparación artesanal de la chicha de "molle"	6
2.3. Microorganismos que intervienen en la fermentación alcohólica	7
2.3.1. Sacaromicetos	7
2.3.2. No Sacaromicetos	8
2.3.3. Las levaduras	8
2.4. Fermentación	10
2.4.1. Fermentación alcohólica	10
2.4.2. Parámetros de fermentación	13
2.4.3. Etanol	16
2.5. Conservación de bebidas	16
2.5.1. El benzoato de sodio	17
2.5.2. Sorbato de potasio	17
2.5.3. Ácido ascórbico	18

2.5.4.	Bisulfito sódico	18
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1.	Obtención de la muestra	19
3.2.	Aislamiento e identificación de cepas	19
3.3	Preparación del inóculo para la fermentación	20
3.4	Elaboración de la chicha de “molle”	20
3.4.1.	Recolección de los frutos frescos	20
3.4.2.	Remojo de los frutos secos	20
3.4.3.	Separación del mosto por filtración	20
3.4.4	Fermentación de la chicha de “molle”	20
3.5.	Optimización organoléptica del mosto	20
3.6.	Selección de cepas y optimización de parámetros de fermentación	21
3.7.	Comparación de la cepa seleccionada con la cepa <i>Saccharomyces</i> ATCC 4126	21
3.8.	Optimización de parámetros de fermentación	21
3.9.	Análisis estadístico	22
IV.	RESULTADOS	23
V.	DISCUSIONES	37
VI.	CONCLUSIONES	41
VII.	RECOMENDACIONES	42
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
	ANEXOS	45

## ÍNDICE DE TABLAS

		<i>Página</i>
Tabla 1.	Lugares de muestreo de la chicha de "molle". Ayacucho 2009	19
Tabla 2.	Preservantes usados en la chicha de "molle"	22
Tabla 3.	Identificación de levaduras aisladas a partir de chicha de "molle" artesanal elaborados en la provincia de Huamanga, del género <i>Saccharomyces</i> por Fermentación de azúcares	24
Tabla 4.	Evaluación del sabor en el mosto de la chicha de "molle" a diferentes temperaturas, en función al tiempo de maceración	26
Tabla 5.	Optimización de los parámetros de fermentación en la chicha de "molle" utilizando la Cepa M11 después de 72h de fermentación	28
Tabla 6.	Optimización de los parámetros de fermentación en la chicha de "molle" utilizando la cepa M12 después de 72h de fermentación	29
Tabla 7.	Comparación de las características de fermentación de la cepa <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 4126 frente a la cepa seleccionada <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (M12), en la chicha de "molle" a 25° / 72 horas	31
Tabla 8.	Evaluación del sabor en las chicha de "molle" sometidas a diferentes tratamientos de conservación al final de los días de prueba (75 días), utilizando la cepa M12 a 25°C /72 horas/15°Brix	36

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<i>Página</i>
Figura 1. Etapas de la glucólisis	12
Figura 2. Formación del etanol por la levadura durante su metabolismo primario	16
Figura 3. Evaluación de los grados Brix en el mosto de la chicha de “molle” en diferentes temperaturas en función al tiempo de maceración	25
Figura 4. Producción de etanol en la chicha de “molle” por fermentación usando 12 cepas de levaduras nativas aisladas de bebidas artesanales de la provincia de Huamanga a 25°C por 72 horas	27
Figura 5. Producción de etanol en diferentes tratamientos de fermentación utilizando las cepas M11 y M12 después de 72h	30
Figura 6. Viabilidad de levaduras en las chichas de “molle” sometidas a diferentes tratamientos de conservación, utilizando la cepa M12 a 25°C /72 horas/15°Brix/75días	32
Figura 7. Porcentaje de acidez en la chicha de “molle” sometidas a diferentes tratamientos de conservación, utilizando la cepa M12 a 25°C /72 horas/15°Brix/75días	33
Figura 8. Grados Brix en las chicha de “molle” sometidas a diferentes tratamientos de conservación, utilizando la cepa M12 a 25°C /72 horas/15°Brix/75días	34
Figura 9. Porcentaje de etanol en las chicha de “molle” sometidas a diferentes tratamientos de conservación, utilizando la cepa M12 a 25°C /72 horas/15°Brix/75días	35

## ÍNDICE DE ANEXOS

	<i>Página</i>
Anexo 1. Identificación de levaduras del género <i>Saccharomyces</i> por su capacidad de fermentación de azúcares	46
Anexo 2. Levaduras del género <i>Saccharomyces</i> identificadas por su capacidad de fermentación de azúcares	47
Anexo 3. Técnica de identificación de levaduras del género <i>Saccharomyces</i> por su capacidad de fermentación de azúcares	48
Anexo 4. Unidades de fermentación	49
Anexo 5. Análisis estadístico de la evaluación de los °Brix en el mosto de la chicha de “molle” en diferentes tratamientos	50
Anexo 6. Análisis estadístico para la producción de etanol de la chicha de “molle” fermentada con diferentes cepas de levaduras a 25°C por 72 horas	51
Anexo 7. Análisis estadístico para la optimización de los parámetros de fermentación de la chicha de “molle” con la cepa M11	52
Anexo 8. Análisis estadístico para la optimización de los parámetros de fermentación de la chicha de “molle” con la cepa M12	53
Anexo 9. Análisis estadístico para la evaluación del sabor en las chicha de “molle” sometidas a diferentes tratamientos de conservación al inicio y al final de los días de prueba, utilizando la cepa M12 a 25°C /72 horas/15°Brix	54
Anexo 10. Técnicas de análisis	55
Anexo 11. Directiva 95/2/CE del parlamento europeo y del consejo Del 20 de febrero de 1995. Relativa a aditivos alimentarios distintos de los colorantes y edulcorantes	58
Anexo 12. Protocolo experimental para la producción de chicha de “molle” y la optimización de parámetros	59

**Título:** Optimización de parámetros para la producción y envasado de chicha de *Schinus molle*, "molle". Ayacucho. 2008

**Autor:** Bach. Juárez Rojas Freddy

**Asesora:** Mg. Paula García Gódos Alcázar

## RESUMEN

La investigación se realizó en chicha de "molle", *Schinus molle*, con los objetivos de aislar e identificar cepas de levaduras productoras de chicha de "molle", optimizar los parámetros de producción y las concentraciones de los preservantes para su envasado, las muestras fueron recolectadas en las localidades de Ñeque, Santa Bárbara, Santa Elena y San Juan de la provincia de Huamanga.

Se aislaron cepas de *Saccharomyces uvarum*, *Saccharomyces carlsbergens*, *Saccharomyces logos*, *Saccharomyces cerevisiae* y cepas de *Saccharomyces sp.* De las cuales la mejor cepa productora de etanol fue la *Saccharomyces cerevisiae* aislada de la chicha procedente del distrito de San Juan. Se optimizó la preparación del mosto en 2 horas de maceración a 50°C, la fermentación de la chicha de "molle" se realizó con la cepa *Saccharomyces cerevisiae* a 25°C, 72 horas y 15° brix, se obtuvo 7.1% de etanol, siendo la producción de etanol 13% menor al de la cepa *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126 con la cual obtuvo 8.3% de etanol, En los tratamientos de preservación se obtuvo mejor resultado al añadir 0.15g/L de metabisulfito y pasteurizar por 60°C / 15 minutos en botella, seguido de 0.15g/L de benzoato de sodio con 0.15g/L de metabisulfito; este segundo tratamiento altera las características edulcorantes de la bebida, la prueba de Túkey evidencia un nivel de aceptación de 4,8 con respecto al primer tratamiento de 8,10 en una escala del 1 al 10 con una significancia de 0.05.

**Palabras clave:** parámetros de fermentación, chicha, *Schinus molle*

## I. INTRODUCCIÓN

La palabra "chicha" es el nombre de una variedad de bebidas alcohólicas derivadas de la fermentación del maíz y otros frutos originarios de América, es una bebida popular gracias a sus componentes y la tradición que la acompaña.

La chicha de "molle" es una bebida oriunda de Perú y México, es una bebida tradicional en el departamento de Ayacucho, de importancia cultural, medicinal y económica, constituyendo producto potencial de consumo que posibilitaría su industrialización.<sup>1</sup>

Actualmente su elaboración es de carácter tradicional y artesanal observándose variaciones en los tiempos y cantidad de insumos. La elaboración artesanal es deficiente en cuanto a higiene y sanidad. Bajo estas condiciones la fermentación natural puede presentar características toxicológicas, por lo que existe una alta probabilidad de que el producto final no sea apto para el consumo humano.<sup>1</sup>

Los alimentos fermentados como la chicha de "molle" contienen una asociación de microorganismos, en el que las levaduras favorecen la fermentación alcohólica de la bebida, pero existe escasa investigación sobre la producción de la chicha de "molle". Al inicio del proceso es posible detectar la mayor diversidad de levaduras, y a medida que el proceso avanza a las fases intermedia y final aparecen levaduras que se caracterizan principalmente por su alcohol-resistencia y alto poder fermentativo como la especie *Saccharomyces cerevisiae*. La intervención de las diferentes especies de levaduras aportan propiedades organolépticas al producto final.<sup>2</sup>

Por lo que surge el interés de seleccionar un producto tradicional y envasarlo, para ello se plantearon los siguientes objetivos:

1. Aislar e identificar cepas de levaduras productoras de chicha de "molle".
2. Optimizar parámetros de producción de chicha de "molle".
3. Optimizar las concentraciones de preservantes para el envasado de chicha de "molle".

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

La elaboración tradicional de una bebida es deficiente en cuanto a higiene y sanidad. Bajo estas condiciones la fermentación natural puede presentar características toxicológicas, por lo que existe una alta probabilidad de que el producto final no sea apto para el consumo humano. A las bebidas alcohólicas fermentadas existentes en los pueblos indígenas de habla quechua, los españoles las bautizaron con el nombre de "chichas", palabra que oyeron por primera vez en las Antillas para designar bebidas semejantes; y después por difusión cultural se expandió en todo Centro y Sudamérica hasta los límites del habla española. De hecho, la etimología más aceptable de la palabra "chicha" sería el náhuatl *chichia*, que significa acedarse o volverse amargo.<sup>1</sup>

Las primeras "cervezas insalivadas de América", como llaman algunos autores, se referían a la chicha de "yuca" o "masato" y a la chicha de "jora". Y a medida que se fueron internalizando en el mundo andino, conocieron también de la chicha de "molle" y la chicha de "cabuya". No se conoce exactamente cuándo y cómo se inició el consumo de estas bebidas; sin embargo, en lo que respecta a la chicha de "jora", se estima que tuvo un consumo ceremonial generalizado en el área andina aproximadamente a partir de la Cultura Chavín, unos 800 años A.C.<sup>3</sup>

En la investigación, estudio integral de los frutos de "molle"; se menciona que la separación de azúcares del fruto de molle es por maceración usando como solvente agua tibia por 12 horas. Los ensayos realizados mostraron que por lo menos existen 2 tipos de azúcares libres en el fruto de molle descascarado, y por lo menos uno de ellos son monómeros de bajo peso molecular.<sup>4</sup>

En el estudio de la fermentación de chicha de "jora" encuentra que al pasteurizar chicha de "jora" a 60°C por 15 minutos no obtuvo resultados satisfactorios para la conservación, porque altera las características organolépticas típicas de la

chicha de "jora". También menciona que utilizando tecnología cervecera en la maduración la chicha de "jora" no ofreció cambios significativos en su composición físico-química, en tanto que las características organolépticas se tornan negativas.<sup>5</sup>

Quizá la especie más reconocida, tanto en bebidas fermentadas espontáneas como inoculadas, es *Saccharomyces cerevisiae*, siendo una de las de mayor interés a nivel comercial, ya que produce y tolera altas concentraciones de etanol y sintetiza compuestos volátiles que le brindan el sabor y aroma al producto final.<sup>6</sup>

En el estudio fermentación experimental de chicha de "molle" con levaduras seleccionadas; se aisló e identificó en muestras de chichas de "molle" de la ciudad de Ayacucho, las siguientes cepas de: *Saccharomyces delbrueckii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces rouxii*, *Saccharomyces logos*, *Saccharomyces oviformis*. Se optimizó parámetros de producción en la cepa *Saccharomyces logos* obteniendo 11.68% de etanol a 30°C, pH 5 y una proporción de molle : agua de 1:2; seguido de 11.31% de etanol a una temperatura a 25°C, pH 3.5 y proporción molle : agua de 1:3, finalmente se alcanzó un valor de 11.30% de etanol a una temperatura de 40°C pH 5.5 y una proporción molle agua 1:3.<sup>7</sup>

En el trabajo, Innovación tecnológica en la industria de bebidas; recomienda asociar mohos y levaduras, dado que la mayoría de las levaduras sólo actúan sobre la glucosa mientras que, muy pocas lo hacen sobre la maltosa y la dextrina, en la obtención de alcohol a escala industrial hay que recurrir a mohos ricos en amilasas que hidrolizan el almidón y la dextrina. Algunos de estos mohos prosiguen la transformación descomponiendo los azúcares obtenidos en alcohol, como el *Aspergillus oryzae* que produce el "sake". En otros casos hay que asociar hongos a levaduras.<sup>8</sup>

En la evacuación de bacterias lácticas aisladas a partir de chicha de "molle" con capacidad antagónica frente a cepas patógenas; se aísla e identifica 22 bacterias de muestras de chicha de "molle" procedentes de la provincia de Ayacucho, presentándose en un 59% *Lactobacillus plantarum* y en un 41% *Leuconostoc mesenteroides*. También evaluó la capacidad antagónica de las bacterias lácticas, mostrándose que el 55, 59 y 91% de cepas inhiben el crecimiento de bacterias patógenas como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* respectivamente y el 31% de cepas producen

sustancias inhibitorias para las tres cepas patógenas, por lo que podría tratarse de sustancias que presentan un efecto inhibitorio de amplio espectro.<sup>9</sup>

En la investigación evaluación de la capacidad probiótica de bacterias lácticas aisladas de chicha de “molle”; se aísla e identifica 55 cepas nativas de chicha de “molle” procedentes del departamento de Ayacucho siendo identificadas las especies: *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, y *Lactobacillus maltaromicus*, evalúa la capacidad probiótica *in vitro* de bacterias lácticas mediante pruebas de antagonismo, observándose que 14 de las 55 cepas BAL aisladas de chicha de “molle” inhibieron el crecimiento de los microorganismos patógenos como *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*, así mismo se evaluó la capacidad de tolerar condiciones gastrointestinales, siendo 25 cepas BAL resistentes a dichas condiciones. También evaluó la capacidad probiótica *in vivo* mediante la ingesta de cepas BAL en ratas, observándose un incremento en la densidad poblacional de  $10^5$  y  $10^{10}$  UFC/ml con respecto al estudio de la utilización de probiótico y prebiótico respectivamente es decir cepas más el jugo de “yacón” colonizaron con más éxito el intestino de los animales de experimentación con respecto a la ingesta de solo bacterias lácticas.<sup>10</sup>

## **2.2. *Schinus molle* “molle”**

La especie vegetal estudiada es de la familia Anacardiáceas comprende 68 géneros y 600 especies, entre los que se cuentan árboles, arbustos y lianas de amplia distribución y en su mayoría de clima tropical.

El género *Schinus*, con 28 especies sudamericanas, han sido citadas con propiedades medicinales. Este género ha sido ampliamente estudiado desde el punto de vista sistemático.

Entre los caracteres anatómicos cabe mencionar la presencia de conductos resiníferos, los cuales caracterizan a la familia Anacardiáceae y al género.

Los estudios etnobotánicos han reflejado que las especies del mismo poseen propiedades medicinales en sus hojas, tallos y frutos. Las más diseminadas y estudiadas en Latinoamérica son: *Schinus molle* L (aguaribay, molle), *Schinus molle* var. *Areira* o *Schinus areira* L. (aguaribay, molle) y *Schinus terebinthifolius* *Radii* (pimienta de Brasil, lentisco).<sup>11</sup>

**2.2.1. Clasificación taxonómica** (según el Sistema Nacional de Información Forestal en México).

Reino	: <i>Plantae</i>
División	: <i>Magnolophyta</i>
Clase	: <i>Magnoliopsida</i>
Orden	: <i>Sapindales</i>
Familia	: <i>Anacardiaceae</i>
Género	: <i>Schinus</i>
Especie	: <i>Schinus molle</i>
Nombre binomial	: <i>Schinus molle</i> L.

**2.2.2. Nombre común**

“molle”, “aburibay”, “pimientero”, “pimienta del diablo”, “terebinta”.<sup>11</sup>

**2.2.3. Distribución**

Se encuentra de forma espontánea, desde el sur de México hasta el norte de Chile, especialmente en Perú, de donde fue llevado a Europa, por los españoles. En Europa se cultiva en parques, paseos y avenidas es muy resistente a la sequía y a las altas temperaturas, aunque no aguanta bien las heladas. En España, es frecuente su cultivo, en las provincias más cálidas, especialmente en el Levante y Andalucía.<sup>12</sup>

**2.2.4. Descripción**

Árbol que puede alcanzar hasta 12m. De altura, y diámetro de tronco de 0.40m; la corteza es áspera, como amplia ramas pendientes. El sistema radicular es axonomorfo, con raíces laterales muy largas. El tallo es cilíndrico y estructuralmente consta de los siguientes tejidos: suber o corcho; parénquima cortical, conteniendo tubos resiníferos típicos; floema secundario escaso, cambium vascular activo; floema primario abundante y médula reducida. Las flores se agrupan en una inflorescencia panícula; son unisexuales y abundantes. Tanto las masculinas como las femeninas son heteroclamídeas, pentámeras, actinomorfas y muy pequeñas. Las estaminadas presentan cáliz y corola de cinco piezas cada una; además presentan 10 estambres y un ovario no funcional. Las flores pistiladas presentan un ovario globoso súpero, unilocular y uniovular. La floración ocurre entre noviembre y diciembre; la fructificación entre marzo y abril y la recolección de frutos en marzo.<sup>13</sup>

### **2.2.5. Materia prima para la chicha de “molle”**

La chicha de “molle” se elabora utilizando como materia prima precisamente los frutos de *Schinus molle*, planta dioica, xerofítica y leñosa. Estos frutos son de tipo drupa, con epicarpio rojizo, mesocarpio semicarnoso dulce y endocarpio pétreo. Precisamente su alto contenido en azúcares favorece la actividad de levaduras de la fermentación alcohólica.<sup>13</sup>

### **2.2.6. Composición química**

La composición de azúcares de los frutos de *Schinus molle* es: fructosa, manosa y glucosa; la composición de aceites: B-Felandreno,  $\alpha$ -pineno, carvacrol, o-etil fenol, B- pineno, alcanfor, mirceno,  $\alpha$ -felandreno, limoneno y p-cimeno, B-spathuleno; cetonas; alcoholes; terpenos; resinas; entre otros.<sup>4</sup>

### **2.2.7. Usos y propiedades de la chicha de “molle”**

La chicha de “molle”, además de ser una bebida refrescante y embriagadora, es un producto terapéutico, ya que se utiliza para aliviar las irritaciones hepáticas aún crónicas, En medicina folklórica las hojas y las flores se utilizan como cataplasmas calientes contra el reumatismo y otros dolores musculares. Las infusiones de hojas junto con hojas de eucalipto, y en inhalaciones, son usadas para el alivio de afecciones bronquiales.<sup>13</sup>

Su resina encuentra parecidas aplicaciones que la almáciga y ha sido empleada como masticatorio en Perú, donde también se elabora con el fruto una bebida fermentada, similar a la “chicha”, principalmente en Ayacucho. La semilla se emplea como “pimienta rosada”, Se trata de una planta ampliamente utilizada por la medicina tradicional. A su corteza y resina se le han atribuido propiedades tónicas, antiespasmódicas y cicatrizantes, y la resina es usada para aliviar las caries. Al frotarse en la piel genera una sustancia que aleja a los mosquitos. Los frutos fresco en infusión se toman contra la retención de orina. Las hojas hervidas y los baños con el agua de las hojas en decocción, sirven como analgésico, cicatrizante y antiinflamatorio de uso externo, y las hojas secas expuestas al sol se usan como cataplasma para aliviar el reumatismo y la ciática.<sup>14</sup>

### **2.2.8. Preparación artesanal de la chicha de “molle”**

Recolección de frutos frescos, la fructificación del molle coincide con la época de lluvias (enero a marzo). Cuando los frutos están maduros, son recolectados manualmente y luego se dejan secar al sol por unos 2 a 3 días. A continuación, se pelan con la ayuda del viento. Una planta de molle rinde en promedio dos

fanegas (una fanega equivale aproximadamente a cuatro latas de aceite), por temporada.

Remojo de los frutos secos, primero se procede a remojar el molle, para lo cual se dispone en una maqma la mezcla del molle con agua hervida fría, en una proporción de aproximadamente 1:2 peso en volumen (molle:agua). En algunos casos, el agua se hierve junto con clavo de olor, canela y piña en rodajas con miras a mejorar el sabor de la "chicha". La maqma en muchos casos está provista de un sotuche (un orificio con salida, para separar el agua de remojo).

El tiempo de remojo es variable, pudiendo ser entre 2 a 3 horas y en otros casos de un día para otro. Nunca se hierve el agua junto con el molle, porque esto conduce a la extracción de ciertas sustancias que le dan un sabor amargo al producto.

Separación del mosto por filtración, el agua de remojo o "chicha verde" obtenida, a continuación se trasciega y se filtra, para luego pasar a fermentar.

Fermentación, la fermentación de chicha de "molle" es espontánea. El mosto obtenido luego del remojo tiene una coloración amarillenta y opaca. Este se deposita en un porongo o cántaro que ha servido para producir un lote anterior, previo lavado ligero con agua corriente. La fermentación se inicia con los propios microorganismos que constituyen la microflora superficial de los frutos del molle, junto con aquellos que se encuentran prácticamente "inmovilizados" dentro de las porosidades del material arcilloso del porongo. Los frutos de molle contienen azúcares fermentables que son utilizados directamente por las levaduras para producir etanol.

La maduración se alcanza luego de 4 a 5 días de fermentación; y después de una semana, la "chicha" está en su máximo poder embriagante; esta es la bebida que se consume para embriagarse en las fiestas patronales. Cuando se expende para negocio, como bebida refrescante, la fermentación es corta, generalmente de un día para otro.<sup>15</sup>

### **2.3. Microorganismos que intervienen en la fermentación alcohólica**

En la fermentación alcohólica participan diferentes especies de levaduras. Pueden mencionarse en Sacaromicetos y no Sacaromicetos:

#### **2.3.1. Sacaromicetos**

*Saccharomyces ellipsoideus*. Es una de las levaduras más activas en la vinificación. Fermenta glucosa, sacarosa y maltosa.

*Saccharomyces apiculatus*. Tiene mucha importancia en la fermentación del vino y de la sidra. Sólo fermenta la glucosa. Deja de reproducirse cuando la concentración alcohólica de un líquido alcanza un 3-4 %, en el caso de los vinos, cuando se llega a esa concentración empieza a actuar la *Saccharomyces ellipsoideus*.

*Saccharomyces cerevisiae*. Se desarrolla en el mosto de la cerveza. Entre los azúcares que puede utilizar están monosacáridos como: glucosa, fructosa, manosa y galactosa, entre otros. También son capaces de utilizar disacáridos como: maltosa y la sacarosa y trisacáridos como: rafinosa. Uno de los azúcares que no puede metabolizar es la lactosa.

*Saccharomyces carlsbergensis*. Se desarrolla en el mosto de cerveza. Fermenta glucosa, maltosa y sacarosa. Tiene un 60% más de longitud que *Saccharomyces cerevisiae*.

*Saccharomyces pastorianus*. Hay 3 variedades, una de ellas produce vinos secos de sabor áspero. Las otras actúan sobre la cerveza produciendo líquidos turbios y de sabor amargo. Fermenta: glucosa, sacarosa y maltosa.<sup>8</sup>

### **2.3.2. No Sacaromicetos**

*Torula*. Forma velo en los líquidos fermentados comunicando sabores amargos y desagradables.

*Mycoderma vini* y *Mycoderma cerevisiae*. Producen también velo en la superficie de los líquidos. El primero es aerobio, transformando el alcohol en CO<sub>2</sub> y agua "flores del vino".<sup>8</sup>

*Brettanomyces*. Son asporógenas. Son células esféricas, ovals o alargadas, se desarrollan lentamente formando cadenas de células. Producen acidez. Desprenden olor a extractos de malta. Fermentación tardía.<sup>16</sup>

*Kloeckera apiculatis*. Células en forma de limón, se conocen como levaduras falsas, comunes en flores, frutas y suelo. Muy activas al inicio de la fermentación. Son perjudiciales para los vinos en los que dan sabores anormales y producen acidez.<sup>16</sup>

### **2.3.3. Las levaduras**

Son hongos unicelulares la mayoría provenientes de los Ascomicetos, normalmente son ovals, esféricas o casi cilíndricas y la división es casi asimétrica o por gemación. Las levaduras prosperan típicamente en hábitat con azúcares, tales como frutos, flores y corteza de los árboles, un buen número vive

simbionte con animales, especialmente insectos y algunas son patógenas para animales, incluido el hombre.<sup>6</sup>

La levadura de interés industrial es la *Saccharomyces cerevisiae*, el hábitat original de esta levadura son las frutas o zumos de frutas, pero las levaduras comerciales de hoy en día son muy diferentes a su ancestro silvestre, ya que ha sido manipulada por el hombre voluntaria e involuntariamente durante los últimos 7000 años, fue el primer eucariota cuyo genoma se secuenció por primera vez.<sup>6</sup>

En la fermentación las levaduras utilizadas para la elaboración de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*) utilizan los azúcares sacarosa, fructosa, maltosa y maltotriosa en este orden. La sacarosa es hidrolizada primeramente por la invertasa localizada en el espacio periplásmico extracelular. Los azúcares son transportados a través de la membrana celular por transporte activo o pasivo mediado por permeasas producidas constitutivamente o inducibles, la maltosa y la maltotriosa son hidrolizadas intracelularmente por la  $\alpha$ -glucosidasa.<sup>17</sup>

Aunque las fermentaciones alcohólicas son en gran medida anaeróbicas. Las levaduras necesitan algo de oxígeno para sintetizar algunos esteroides y ácidos grasos insaturados componentes de la membrana. El mosto de la cerveza contiene normalmente niveles subóptimos de esteroides y ácidos grasos insaturados. Pero cuando el medio se suplementa con ácido oleico u oleico, la necesidad de oxígeno desaparece.<sup>17</sup>

Muchas cepas de *Saccharomyces cerevisiae* pueden producir concentraciones de etanol hasta el 12% – 14%. Existe un cierto interés en el empleo de levaduras tolerantes de cantidades elevadas de alcohol en los procesos de fabricación de cerveza con gravedad elevada y la producción de alcohol para la destilación con vistas a incrementar la productividad de la planta y disminuir los costos de destilación. Existen cepas seleccionadas capaces de producir hasta un 18 – 20 % de alcohol, aunque la velocidad de fermentación se ve fuertemente reducida cuando la concentración de etanol aumenta, los mostos con un contenido muy elevado de azúcares fermentan únicamente con levaduras osmofílicas como *Saccharomyces rouxii* y *Saccharomyces bailli*, que poseen una gran capacidad para fermentar la fructosa.<sup>17</sup>

La levadura de alta fermentación es la que se encuentra normalmente en la naturaleza. Por ejemplo *Saccharomyces ellipsoides*, *Schizosaccharomyces pombe* y *Saccharomyces cerevisiae*; éste último encuentra en los tallos de los cereales y en la boca de los mamíferos. Fue descubierta por Louis Pasteur en

1852 en sus investigaciones sobre la cerveza. Esta variedad actúa a temperaturas de entre 12 y 24 °C y se sitúa en la superficie del mosto. A las cervezas que se consiguen con este tipo de fermentación se les llama de alta fermentación o ales. Existen muchas variantes de esta levadura adaptadas a cada estilo de cerveza. En especial existe una que se suele llamar "levadura Weizen" y que aporta a las cervezas del sur de Alemania su gusto especial.<sup>18</sup>

La levadura de baja fermentación es una variedad descubierta involuntariamente por los cerveceros del sur de Alemania que sometían sus cervezas a una maduración a bajas temperaturas en las cuevas de los Alpes por ejemplo *Saccharomyces uvarum*, *Saccharomyces carlsbergensis*, *Saccharomyces pastorianus*, *Saccharomyces logos*, actúan a temperaturas de entre 7 y 13 °C y se suelen situar en el fondo del fermentador. Las cervezas que se elaboran con esta variedad son las llamadas de baja fermentación o Lager.<sup>18</sup>

## **2.4. Fermentación**

### **2.4.1. Fermentación alcohólica**

Proceso anoxibiótico y prescindiendo de cuerpos intermedios, la reacción que tiene lugar y que se llama de Gay-Lussac, se expresa por la siguiente ecuación química:  $C_6H_{12}O_6 = 2 CH_3-CH_2OH + 2CO_2$  El proceso oxidativo no es nunca total o completo. Ya Pasteur probó que solamente la mitad de la glucosa lo sufre en tanto que la otra mitad se transforma en material celular.<sup>19</sup>

Energética y estequiométricamente la fermentación alcohólica se puede formular de la siguiente manera:



Una fermentación es una reacción de oxidación – reducción interna equilibrada a la que algunos átomos de la fuente de energía (donador de electrones) se reducen, mientras otros se oxidan y la energía se produce por fosforilación a nivel de sustrato. Una ruta bioquímica muy usada para la fermentación de la glucosa es la glucólisis, también denominada vía de Embden – Meyerhof en atención a sus descubridores.<sup>20</sup>

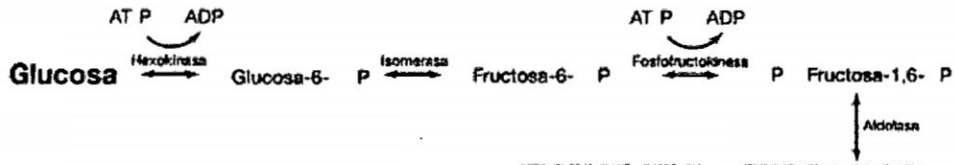
La glucólisis se puede dividir en tres etapas principales, cada una de las cuales comprende reacciones individuales catalizadas enzimáticamente:

**La etapa I:** consiste en una serie de reacciones preparatorias que no implican ni oxidación ni reducción y que no liberan energía, pero que conducen a la producción a partir de glucosa de dos moléculas del intermediario clave gliceraldehído 3 – fosfato.

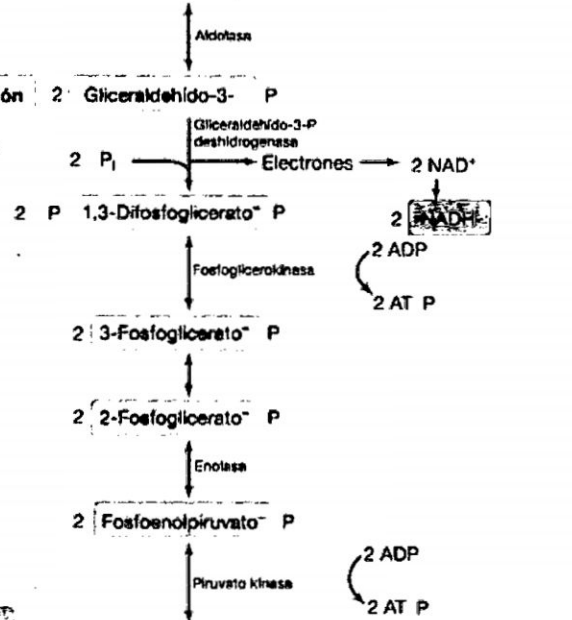
**La etapa II:** ocurre un proceso redox, la energía se conserva en forma de ATP, y se forman dos moléculas de piruvato.

**La etapa III:** segunda reacción redox y se originan los procesos de fermentación, por ejemplo: etanol, CO<sub>2</sub>, ácido láctico.<sup>6</sup>

**Etapas I: Reacciones preparatorias**  
Producción de gliceraldehído-3-P

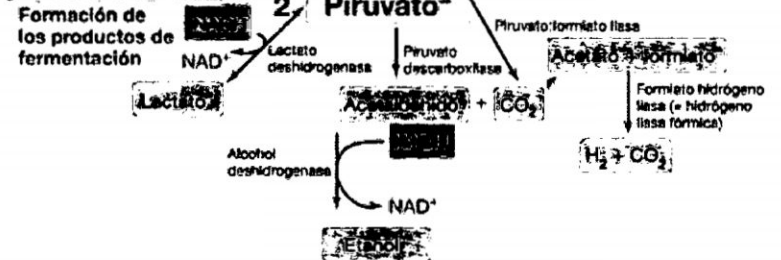


**Etapas II: Oxidación**  
Obtención de ATP y piruvato



Consumo y generación de ATP en la glucólisis		
Reacción	ATP (ganancia/pérdida)	ATP neto
1. Glucosa → Glucosa-6-P	-1	-1
2. Fructosa-6-P → Fructosa-1,6, difosfato	-1	-2
3. 2 (1,3-Difosfoglicerato) → 2 (3-Fosfoglicerato)	+2	0
4. 2 Fosfoenolpiruvato → 2 Piruvato	+2	+2

**Etapas III: Reducción**



Balance energético de la glucólisis		
Ejemplos de estequiometría global:	Organismos:	Energía libre:
(1) Glucosa → 2 etanol + 2 CO <sub>2</sub>	Levaduras	1. Etanol/CO <sub>2</sub> : -238,8 kJ/mol de glucosa fermentada. Asumiendo un valor de -31,8 kJ/mol para el enlace fosfato de alta energía del ATP, se conservan en ATP -63,6 kJ, lo que representa una eficiencia del 27%.
(2) Glucosa → 2 lactato <sup>-</sup> + 2 H <sup>+</sup>	Bacterias del ácido láctico	
(3) Glucosa → 1 lactato <sup>-</sup> + 1 acetato <sup>-</sup> + 1 formiato <sup>-</sup> + 3 H <sup>+</sup>	Bacterias entéricas	2. Lactato: -196 kJ, para una eficiencia del 32%.
(4) Glucosa → 1 lactato <sup>-</sup> + 1 acetato <sup>-</sup> + H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub> + 2 H <sup>+</sup>	Bacterias entéricas	

Figura 1. Etapas de la glucólisis.<sup>6</sup>

El rendimiento teórico de 1g de glucosa es de 0,51g de etanol y 0,49 g de CO<sub>2</sub>, sin embargo en la práctica el 10% de la glucosa se transforma en biomasa y el rendimiento en etanol y CO<sub>2</sub> alcanzan el 90% del valor teórico. El ATP formado se utiliza para las necesidades energéticas de la célula.<sup>17</sup>

En la fermentación alcohólica tienen lugar una serie de descomposiciones de proteínas y otros compuestos presentes en el mosto con lo que además de los compuestos anteriores se producen:

- alcoholes superiores: propílico, hexílico, heptílico, octílico, etc.
- ácidos: fórmico, acético, propiónico, láctico, succínico, cítrico, etc.
- aldehídos
- esterres
- amidas
- aminoácidos
- sales orgánicas
- minerales

La fermentación alcohólica es un proceso complejo donde intervienen un gran número de enzimas producidas por diversas clases de microorganismos.<sup>8</sup>

#### **2.4.2. Parámetros de fermentación**

Los aspectos más importantes a tener en cuenta en cuanto a la elaboración de una bebida alcohólica son: la cepa, donde destaca la importancia de aislarla e identificarla; azúcares solubles, que se puede determinar usando refractometría; el porcentaje de etanol determinado por microdestilación y la viabilidad de las levaduras usando la técnica de azul de metileno.<sup>21</sup>

El pH es otro factor importante a tener en cuenta, mientras que las levaduras vivas se adaptan, debido a su capacidad reguladora, a un amplio rango de pH óptimo, comprendido entre 4.3 y 6.6 la levadura seca de fermentación baja, muerta o enferma, está limitada estrechamente a un pH de 6.3.<sup>20</sup>

En los sistemas biológicos, el pH tiene a menudo mayor significado que la acidez total. Es particularmente importante por su efecto sobre los microorganismos, sobre el color, sobre el sabor, sobre el potencial redox y sobre la proporción entre el dióxido de azufre libre y el combinado.<sup>22</sup>

En las levaduras, los valores de pH comprendidos entre 3 y 6 son la mayoría de las veces favorables al crecimiento y actividad fermentativa; esta última es mayor cuanto mayor sea el pH y se produce una caída notable a valores de pH entre 3 y 4. El pH influye en la formación de subproductos; por ejemplo, a valores de pH

elevados se incrementa la formación de glicerol. El pH del mosto de uva esta generalmente comprendido entre 3 y 3,9 debido a su elevado contenido de ácidos (5 – 15 g/L), principalmente tartárico y málico, de forma que, como la mayoría de las bacterias, con excepción de las bacterias, del ácido acético y láctico prefieren pH más neutros, la susceptibilidad del mosto de vino a la contaminación bacteriana es reducida.<sup>17</sup>

Las temperaturas óptimas de la fermentación, la respiración de las levaduras y el crecimiento celular son claramente diferentes. La velocidad de fermentación aumenta, generalmente con la temperatura entre los 15 y los 35°C y los niveles de glicerol; acetona; buteno- 2,3-diol; acetaldehído; piruvato y 2-cetoglutarato se elevan en los caldos de fermentación. La formación de niveles elevados de alcohol también depende de la temperatura. En los vinos blancos, la menor temperatura de fermentación da lugar a vinos más frescos y afrutados y el riesgo de infección bacteriana y de producción de ácidos volátiles como resultado es reducido. Para la producción de vino tinto se utilizan temperaturas más elevadas, de 22°C a 30°C, y la fermentación con los hollejos conduce a la intensificación del color y a la producción de un rico aroma.<sup>17</sup>

En la producción de bebidas alcohólicas deben controlarse las fermentaciones de forma que, por un lado se asimilen los carbohidratos y otros nutrientes y se conviertan en alcohol y en compuestos con aromas característicos deseables, por otro lado, se minimice la formación de aromas y sabores indeseables. Entre los componentes del aroma y sabor se encuentran otros alcoholes diferentes del etanol, ésteres, compuestos carbónicos, ácidos orgánicos, compuestos azufrados, aminas y fenoles.<sup>17</sup>

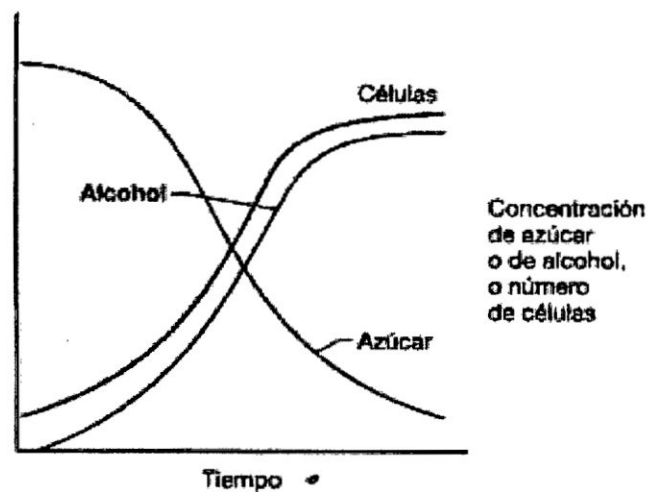
Cuantitativamente, y en función de su papel en el aroma y sabor, los componentes más importantes presentes en las bebidas alcohólicas son los alcoholes superiores, denominados también alcoholes de fusel o aceites de fusel, entre los cuales los más significativos en la cerveza y el vino son el alcohol amílico, el isoamílico y el 2-fenoetanol. El vino tinto tiene una concentración mayor de estos compuestos que el vino blanco. Las bebidas destiladas tienen un espectro bastante diferente de alcoholes superiores, que incluyen butanoles y pmanoles. El glicerol, alcohol polihídrico, esta presente en casi todas las bebidas alcohólicas. En el vino, el glicerol se encuentra a concentraciones de hasta el 1 % (peso/volumen) y confiere cuerpo a esta bebida. En muchas bebidas y licores, los ésteres constituyen un grupo importante de compuestos

volátiles debido a su penetrante aroma afrutado. Entre ellos, el acetato de etilo esta presente en muchas bebidas a concentraciones organolépticamente importantes. Otros esteres importantes incluyen el formiato de etilo y el acetato de isoamilo. El acetaldehído, con propiedades organolépticas indeseables, se produce como un compuesto intermedio durante las fermentaciones alcohólicas, obteniéndose niveles altos por tasas de levaduras elevadas o excesiva aireación. El diacetilo y la pentano-2,3-diona, formados fuera de las células de la levadura por descarboxilación oxidativa del n-acetolato y el n-cetohidroxiacetato, tienen aromas y sabores indeseables característicos. Las levaduras pueden reducir el diacetilo y la pentano-2,3-diona. La presencia de exceso de diacetilo en la cerveza se produce cuando el n-acetolactato aparece en una etapa en la que las levaduras ya han sedimentado o han perdido su capacidad para reducir el diacetilo a acetoina o el exceso de diacetilo en la cerveza también puede deberse a la presencia de organismos que la deterioran, como *Pediococcus* y *Lactobacillus*.<sup>17</sup>

Durante la fermentación primaria del mosto de la cerveza se producen cantidades considerables de  $\text{SH}_2$  provenientes de la reducción de los compuestos azufrados. Aunque en la cerveza pueden ser aceptables cantidades pequeñas de compuestos azufrados, y en la cerveza normal el  $\text{SO}_2$  está usualmente presente a concentraciones por debajo de su umbral de sabor, el exceso produce aromas y sabores desagradables. El dióxido de azufre influye positivamente en la fermentación alcohólica, puesto que se une al acetaldehído y además inhibe algunas de las reacciones de oxidación indeseables. En el mosto del vino, el  $\text{SO}_2$  inhibe algunos microorganismos indeseables, entre ellos las bacterias del ácido láctico y ácido acético, así como algunas levaduras naturales que producen un exceso de ácidos volátiles, piruvato y n-cetoglutarato. Además la producción del desagradable sabor del ácido acético también inhibe las fermentaciones de levaduras, particularmente combinado con el etanol, *Saccharomyces cerevisiae* es más susceptible a esta inhibición que *Saccharomyces ludwigii*, *Schizosaccharomyces pombe*. En los mostos cuya acidez total es baja, es muy útil emplear  $\text{SO}_2$  para inhibir la fermentación maloláctica por las bacterias del ácido láctico, impidiendo la disminución posterior del nivel de ácido. Una concentración elevada de  $\text{SO}_2$  puede retrasar el comienzo de la fermentación.<sup>17</sup>

### 2.4.3. Etanol

Es el resultado típico del metabolismo microbiano en el que el producto se forma en la fase primaria de crecimiento en la fermentación alcohólica, el etanol es un producto de crecimiento anaeróbico de las levaduras y algunas bacterias y se forma como parte del metabolismo energético. Dado que el crecimiento puede ocurrir sólo si se produce energía, la formación de etanol tiene lugar paralelamente al crecimiento.<sup>6</sup>



**Figura 2. Formación del etanol por la levadura durante su metabolismo primario<sup>6</sup>**

### 2.5. Conservación de bebidas

Existen algunos métodos que actúan como inhibidores de las bacterias tales son el calentamiento, deshidratación, irradiación o congelación. Se puede aplicar métodos químicos que causen la muerte de los microorganismos o que al menos elimine la posibilidad de su reproducción. En una gran mayoría de alimentos existen los conservantes de forma natural, por ejemplo muchas frutas que contienen ácidos orgánicos tales como ácido benzoico o el ácido cítrico. Por ejemplo la relativa estabilidad de los yogures al compararlo con la leche se debe al ácido láctico elaborado durante su fermentación. Algunos alimentos tales como los ajos, cebollas y la mayoría de las especies contienen potentes agentes antimicrobianos, o precursores que se transforman en ellos al triturarlos. La estabilidad microbiológica de las bebidas alcohólicas puede aumentarse con distintos procedimientos:

- Acción del calor (pasteurización y esterilización).

- Esterilización por filtración.
- Acción de sustancias antimicrobianas activas y preservantes.
- Acción de radiaciones.<sup>8</sup>

### **2.5.1. El benzoato de sodio**

También conocido como benzoato de sosa o (E211), es una sal del ácido benzoico, blanca, cristalina o granulada, de fórmula  $C_6H_5COONa$ . Es soluble en agua y ligeramente soluble en alcohol. La sal es antiséptica y se usa generalmente para conservar los alimentos. En cantidades elevadas es tóxica. Puede ser producido por reacción de hidróxido sódico con ácido benzoico. Como aditivo alimentario es usado como conservante, matando eficientemente a la mayoría de levaduras, bacterias y hongos. El benzoato sódico solo es efectivo en condiciones ácidas ( $pH < 3,6$ ) lo que hace que su uso más frecuente sea en conservas, en aliño de ensaladas (vinagre), en bebidas carbonatadas (ácido carbónico), en mermeladas (ácido cítrico), en zumo de frutas (ácido cítrico) y en salsas de comida china (soja, mostaza y pato). También se encuentra en enjuagues de base alcohólica y en el pulido de la plata. Más recientemente, el benzoato sódico está presente en muchos refrescos como Sprite, Fanta, Sunkist, Dr Pepper y Coke Zero. El sabor del benzoato sódico no puede ser detectado por alrededor de un 25% de la población, pero para los que han probado el producto químico, tienden a percibirlo como dulce, salado o a veces amargo. Cerca de 50 países en cinco regiones del Codex permiten el uso de ácido benzoico y sus sales en los niveles de 1.000 ppm o mayores. Estos países incluyen los Estados Unidos, Canadá y México.<sup>8</sup>

### **2.5.2. Sorbato de potasio**

Es un conservante suave cuyo principal uso es como conservante de alimentos. También es conocido como la sal de potasio del ácido sórbico, (número E 202). Su fórmula molecular es  $C_6H_7O_2K$  y su nombre científico es (E,E)-hexa-2,4-dienoato de potasio. El sorbato de potasio es utilizado en una variedad de aplicaciones incluyendo alimentos, vinos y cuidado personal. Los sorbatos se utilizan en bebidas refrescantes, en repostería, pastelería y galletas, en derivados cárnicos, quesos, aceitunas en conserva, en postres lácteos con frutas, en mantequilla, margarina, mermeladas y en otros productos. En la industria de fabricación de vino encuentra aplicación como inhibidor de la fermentación secundaria permitiendo reducir los niveles de sulfitos. Cada vez se usan más en los alimentos los sorbatos en lugar de otros conservantes más

tóxicos como el ácido benzoico. Los sorbatos son muy poco tóxicos, de los que menos de entre todos los conservantes, menos incluso que la sal común o el ácido acético (el componente activo del vinagre). Por esta razón su uso está autorizado en todo el mundo. Metabólicamente se comporta en el organismo como los demás ácidos grasos, es decir, se absorbe y se utiliza como una fuente de energía.<sup>23</sup>

### **2.5.3 Ácido ascórbico**

Y sus sales de sodio, potasio y calcio se utilizan de forma generalizada como antioxidantes y aditivos. Estos compuestos son solubles en agua, por lo que no protegen a las grasas de la oxidación. En mostos o vinos adquiere su importancia al oxidarse, consumiendo el oxígeno presente, por lo que impide la oxidación tanto de precursores aromáticos como de compuestos polifenólicos; protege al mosto o vino de las oxidaciones enzimáticas (tirosinasa, lacasa) así como de las oxidaciones químicas.<sup>24</sup>

### **2.5.4. Bisulfito sódico**

Es un compuesto químico de fórmula química  $\text{NaHSO}_3$ . Es conocido también como sulfito ácido de sodio, sal monosódica de ácido sulfuroso, hidrógeno sulfito sódico. Se trata de un compuesto inestable que al reaccionar con el oxígeno se convierte en sulfato de sodio. Es empleado en la industria alimentaria como conservante y figura como E-222. Suele emplearse como conservante y en algunos casos debido a su efecto oxidante se sabe que puede reducir el contenido vitamínico de los alimentos. Bisulfito de sodio es un agente reductor común en la industria química, reacciona con oxígeno generando bisulfato. Como reductor, se utiliza para eliminar oxígeno disuelto en grandes sistemas de transporte hidráulico de aguas, como tecnología de prevención de la corrosión. Si la solución acuosa que se transporta no es alcalina se utiliza sulfito de sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ), ya que el bisulfito genera ácido en solución al oxidarse a sulfato. Se emplea en la conservación de cebollas, bebidas alcohólicas (vino), productos de panificación, jugos de frutas así como productos alimenticios a base de patatas. Se emplea en la elaboración del vino con el objeto de preservar sabores. En el enlatado de frutas para prevenir que se pongan de color marrón (un efecto muy similar al que hace el vinagre). Se aconseja no sobrepasar como máximo 0.7 miligramos de bisulfito sódico por kilogramo de peso corporal. Por regla general las personas intolerantes a los sulfitos deberían evitar ingerir alimentos con número E-222.3 En contacto con ácidos puede liberar gases tóxicos.<sup>25</sup>

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Obtención de la muestra

Se obtuvieron muestras de chicha de “molle” en las localidades de Ñeque, Santa Bárbara, San Elena y San Juan, de la provincia de Huamanga, por ser zonas con tradición productora, tal como se muestra en la siguiente tabla:

**Tabla 1. Lugares de muestreo de la chicha de “molle”. Ayacucho 2009**

Muestra	Lugar de muestreo
M1	Ñeque
M2	Ñeque
M3	Ñeque
M4	Santa Bárbara
M5	Santa Bárbara
M6	Santa Bárbara
M7	Santa Elena
M8	Santa Elena
M9	Santa Elena
M10	San Juan
M11	San Juan
M12	San Juan

Las muestras fueron transportadas en frascos de vidrio estériles, luego refrigeradas hasta su procesamiento 24 horas después.

#### 3.2. Aislamiento e Identificación de cepas

Se aisló utilizando el método de diluciones sucesivas y se sembró en placa con Agar sabouraud por estrías; en la identificación, se utilizó la técnica de fermentación de azúcares para identificar levaduras del género *Saccharomyces* (Anexo 1), así como observaciones microscópicas y macroscópicas.

### **3.3. Preparación del inóculo para la fermentación**

Se sembró en caldo YM una asada de cada cepa a experimentar, y se incubó de 25°C a 30°C por 24 a 48h. El volumen del inóculo fue del 5 a 10% del volumen total del sistema de fermentación.

### **3.4. Elaboración de la chicha de “molle”**

La elaboración de la chicha de “molle” para el presente trabajo se basó en la elaboración artesanal que describe Mujica en su trabajo de Caracterización bioquímica y tecnológica de bebidas fermentadas tradicionales:

#### **3.4.1. Recolección de frutos frescos**

La fructificación del molle coincidió con la época de lluvias (enero a marzo). Cuando los frutos están maduros, son recolectados manualmente y luego se dejan secar al sol por unos 2 a 3 días. A continuación, se pelaron con la ayuda del viento. Un planta de molle rinde en promedio dos fanegas (una fanega equivale aproximadamente a cuatro latas de aceite), por temporada.

#### **3.4.2. Remojo de los frutos secos**

Se procedió a remojar el molle, para lo cual se dispuso un envase para la mezcla del molle con agua hervida a una temperatura de 50°C por 2 h, en una proporción de aproximadamente 1:3 peso en volumen (molle:agua).

#### **3.4.3. Separación del mosto por filtración**

Se filtró el “agua de remojo” o “chicha verde” obtenida, para luego pasar a fermentar. Este proceso se realizó con tela de lino en varias repeticiones hasta ya no observar las partículas visibles.

El mosto ya remojado y filtrado se separó en envases de vidrio para autoclavar. Este paso se realiza con fines experimentales para eliminar otro microorganismo que compita con la cepa de experimentación.

#### **3.4.4. Fermentación de la chicha de “molle”**

Este proceso fue inducido al adicionar un inóculo de una cepa de levadura al mosto estéril. La temperatura (25°C, 30°C y 35°C) y grados Brix (8°, 10° y 15°) que fueron las variables independientes.

### **3.5. Optimización organoléptica del mosto**

Se realizó una prueba de degustación luego de preparar el mosto y autoclavar, midiendo el tiempo y temperatura del remojo con la cantidad de azúcares solubles extraídos y el sabor. De esta manera se obtiene un mosto estéril con un sabor agradable para iniciar la fermentación. La proporción general usada de molle- agua es 1:3 (peso:volumen).

### **3.6. Selección de cepas y optimización de parámetros de fermentación**

Para la pre-selección de cepas se preparó un mosto estéril el cual se dividió en 12 frascos estériles una para cada cepa, paralelamente se preparó un inóculo en caldo YM de 10 ml de cultivo joven de cada cepa a 25°C por 24 a 48 horas. Cada inóculo se sembró a su respectivo frasco codificado para incubarlos a 25°C por 72 horas bajo las mismas condiciones. El parámetro considerado para la selección de las mejores cepas fue el porcentaje de etanol de la bebida.

Para la selección de cepas se repitió el procedimiento con 05 de las mejores cepas productoras de etanol y a su vez de diferentes lugares de muestreo, tomando como parámetros de selección: porcentaje de etanol, grados Brix y acidez total.

Se tomaron dos de las mejores cepas de diferentes especies que poseen alto porcentaje de etanol para variar los siguientes parámetros en la fermentación:

Temperaturas: 25°C, 30°C y 35°C y °Brix: 8°, 10° y 15°. Para el criterio de selección se consideró el mayor porcentaje de etanol.

### **3.7. Comparación de la cepa seleccionada con la cepa *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126**

Se procedió a fermentar la cepa seleccionada y *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126, con los parámetros optimizados, para comparar el rendimiento de la cepa seleccionada en porcentaje de etanol.

### **3.8. Optimización en el método de conservación**

Se preparó 10L de chicha de "molle" con la cepa seleccionada en los parámetros optimizados y se envasaron en 35 frascos estériles. Paralelamente se dispusieron diluciones de los conservantes a emplear teniendo en cuenta la Directiva 95/2/CE del parlamento europeo y del consejo del 20 de febrero de 1995, relativa a aditivos alimentarios distintos de los colorantes y edulcorantes y la cantidad añadida por productores de vino. Se tomó los parámetros iniciales como día cero, para ser analizados cada 15 días hasta obtener 6 puntos. Cada grupo experimental tiene 7 frascos en iguales condiciones para ser eliminado uno cada 15 días. Las variables medidas son: porcentaje de etanol, °Brix, acidez total, viabilidad de levaduras y sabor al final de la fermentación.

**Tabla 2. Preservantes usados en la chicha de "molle"**

Código de Tratamiento	Preservante 01	Preservante 02	Pasteurización (60°C/ 15min)
P0	sin preservante	sin preservante	No
P1	metabisulfito (0,15g/L)	Sin preservante	Si
P2	metabisulfito (0,15g/L)	Benzoato de sodio (0,15g/L)	No
P3	metabisulfito (0,15g/L)	Sorbato de potasio (0,15g/L)	No
P4	metabisulfito (0,15g/L)	Ácido ascórbico (0,05g/L)	no

Fuente: Directiva 95/2/ce del parlamento europeo y del consejo de 1995.

Se utilizó la técnica de pasteurización en botellas. En este procedimiento los microbios se destruyen al someter a las botellas con chicha de "molle" por a calentamiento por aspersion con agua caliente y seguidamente se enfrían a temperatura ambiente. En esta técnica se destruyen simultáneamente los gérmenes que contaminaban originalmente el producto así como los contaminantes de las botellas. Debido a que el enfriamiento es mucho más rápido no hay peligro de que se produzcan modificaciones del sabor por el efecto del calor.

Debido a las temperaturas fluctuantes en el día y la noche, y que la filtración no fue un proceso a optimizar en el presente trabajo, y no teniéndose reportes iniciales sobre esta investigación los grupos experimentales se mantuvieron en refrigeración a 4°C.

### **3.9. Análisis estadístico**

Las muestras de chicha de "molle" fueron tomadas en forma aleatoria del lugar de muestreo y los diferentes tratamientos se realizaron con un diseño completamente aleatorio.

El análisis estadístico para la selección de la mejor cepa productora de etanol fue el de ANOVA y la prueba de Túkey, Scheffe y Duncan con una significancia de 0.05. Los diseños experimentales donde existe una variable dependiente y dos factores independientes como los tratamientos de optimización de parámetros de fermentación se aplicaron el Análisis Univariante para observar las interacciones entre los factores así como los factores individuales.

Todos los análisis fueron efectuados utilizando el programa *SPSS* versión 15.0.

## **IV. RESULTADOS**

**Tabla 3. Identificación de levaduras aisladas a partir de chicha de “molle” artesanal elaborados en la provincia de Huamanga, del género *Saccharomyces* por Fermentación de azúcares**

Muestra	Fermentación						Especie
	Gluc.	Galac.	Saca.	Malto.	Lact.	Raf.	
M1	+	+f	+	+f	-	+	<i>Saccharomyces uvarum</i>
M2	+	+f	+	+f	-	+	<i>Saccharomyces uvarum</i>
M3	+	+f	+	+f	-	+	<i>Saccharomyces uvarum</i>
M4	+	-	-	-	-	+	<i>Saccharomyces sp.</i>
M5	+	-	-	-	-	+	<i>Saccharomyces sp.</i>
M6	+	-	+	-	-	-	<i>Saccharomyces sp.</i>
M7	+	+f	+	+	-	+	<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>
M8	+	+	+	+	-	+	<i>Saccharomyces logos</i>
M9	+	-	-	-	-	+	<i>Saccharomyces sp.</i>
M10	+	+	+	+	-	+	<i>Saccharomyces logos</i>
M11	+	+f	+	+	-	+	<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>
M12	+	+f	+	+	-	+	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>

+f : baja actividad fermentativa

F : fermentación

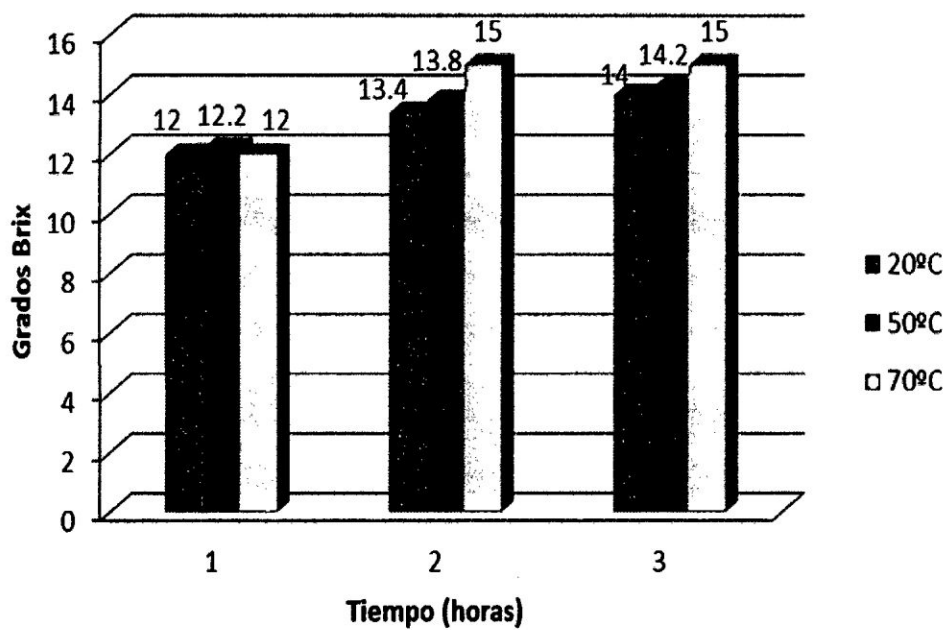
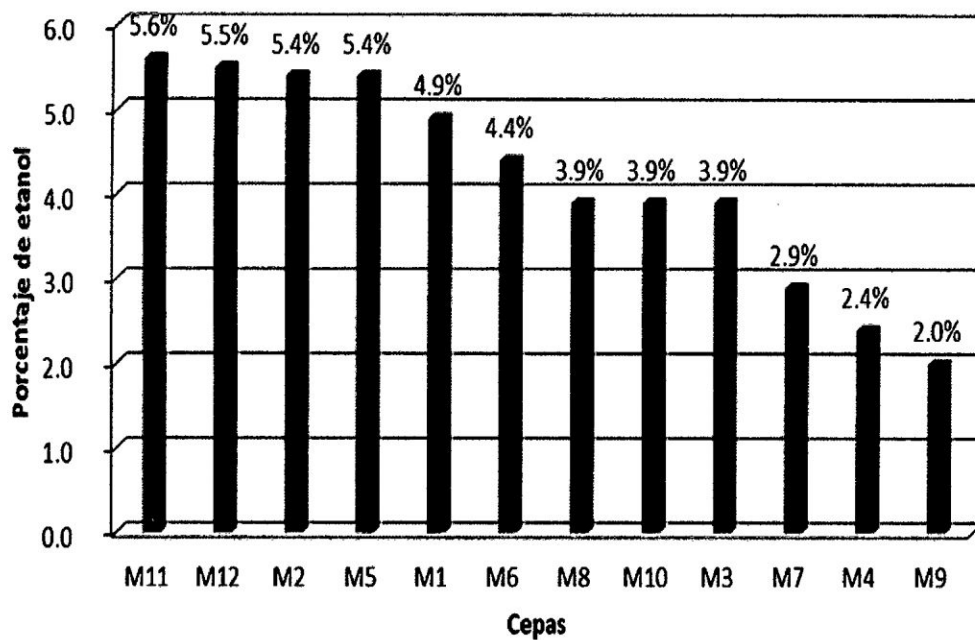


Figura 3. Evaluación de los grados Brix en el mosto de la chicha de “molle” en diferentes temperaturas en función al tiempo de maceración

**Tabla 4. Evaluación del sabor en el mosto de la chicha de “molle” a diferentes temperaturas, en función al tiempo de maceración**

		TEMPERATURA								
		20°C			50°C			70°C		
Tiempo (horas)										
	Agradable	Regular	Desagradable	Agradable	Regular	Desagradable	Agradable	Regular	Desagradable	
1	0%	0%	100%	0%	20%	80%	0%	40%	60%	
2	0%	40%	60%	<b>70%</b>	30%	0%	20%	80%	0%	
3	0%	60%	40%	0%	20%	80%	0%	0%	100%	



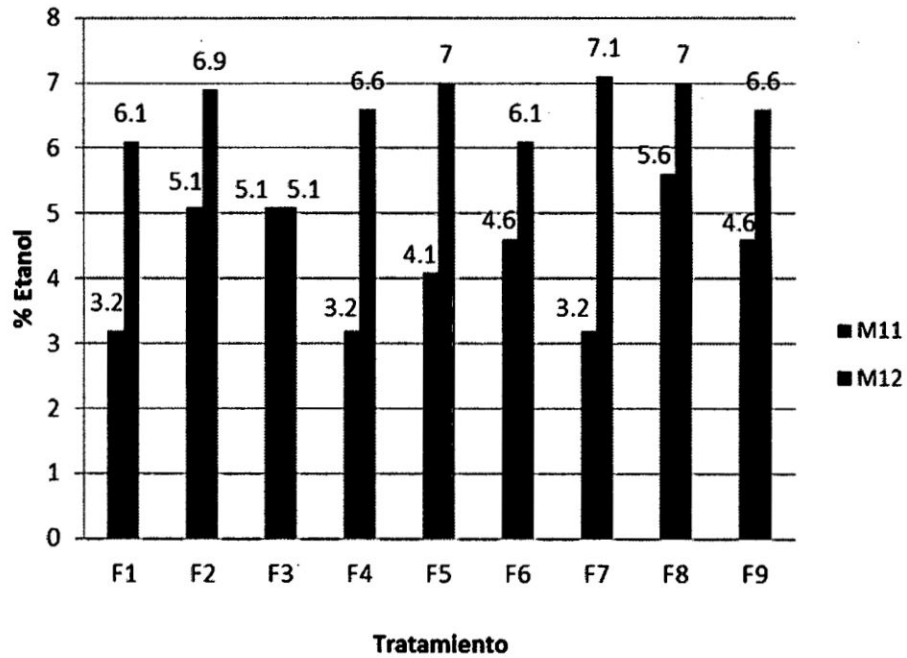
**Figura 4. Producción de etanol en la chicha de “molle” por fermentación usando 12 cepas de levaduras nativas aisladas de bebidas artesanales de la provincia de Huamanga a 25°C por 72 horas**

**Tabla 5. Optimización de los parámetros de fermentación en la chicha de “molle” utilizando la Cepa M11 después de 72h de fermentación**

Tratamiento	CONDICIONES INICIALES			RESULTADOS			
	°Brix	Temp. (°C)	%Etanol	°Brix	Acidez %	Viabilidad (% células vivas)	pH
F1	8	25	3.2	6.0	0.259	53	4
F2	8	30	5.1	6.0	0.252	42	4
F3	8	35	5.1	7.0	0.210	50	4
F4	10	25	3.2	8.0	0.287	68	4
F5	10	30	4.1	8.0	0.266	28	4
F6	10	35	4.6	8.6	0.252	78	4
F7	15	25	3.2	12.3	0.273	58	4
F8	15	30	5.6	12.7	0.238	27	4
F9	15	35	4.6	13	0.231	39	4

**Tabla 6. Optimización de los parámetros de fermentación en la chicha de “molle” utilizando la cepa M12 después de 72h de fermentación**

Tratamiento	CONDICIONES INICIALES			RESULTADOS			
	°Brix	Temp. (°C)	%Etanol	°Brix	Acidez %	Viabilidad (% células vivas)	pH
F1	8	25	6.1	2.6	0.308	93	4.0
F2	8	30	6.9	2.5	0.294	91	4.0
F3	8	35	5.1	2.5	0.280	85	4.0
F4	10	25	6.6	3.0	0.329	96	4.0
F5	10	30	7.0	3.0	0.343	83	4.0
F6	10	35	6.1	3.0	0.294	71	4.0
F7	15	25	7.1	4.2	0.371	91	3.9
F8	15	30	7.0	4.0	0.378	90	3.9
F9	15	35	6.6	5.0	0.357	80	3.9



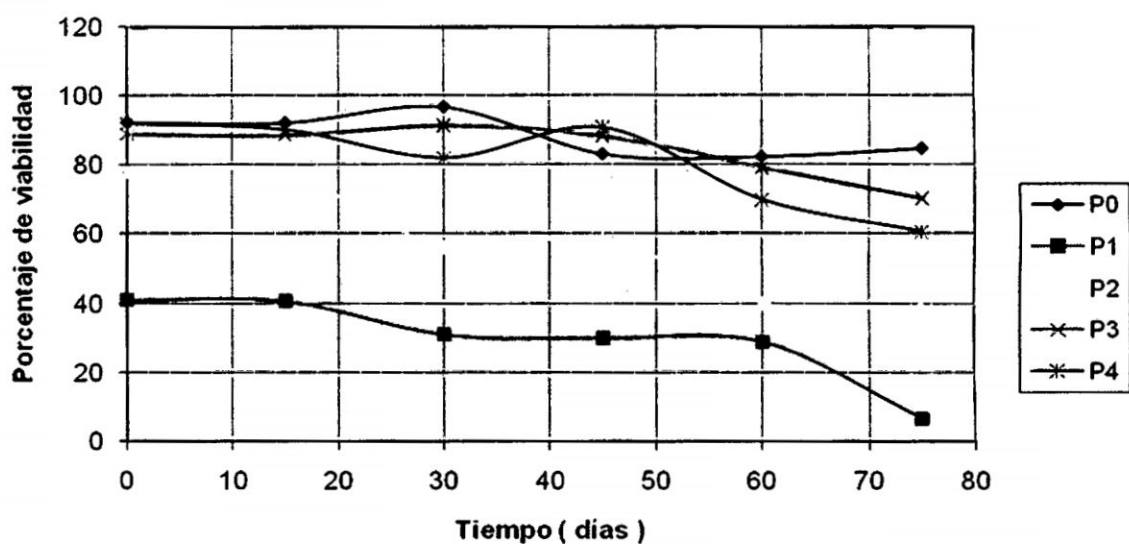
**Figura 5. Producción de etanol en diferentes tratamientos de fermentación utilizando las cepas M11 y M12 después de 72h**

**Leyenda:**

Tratamiento	°Brix	Temp. (°C)
F1	8	25
F2	8	30
F3	8	35
F4	10	25
F5	10	30
F6	10	35
F7	15	25
F8	15	30
F9	15	35

**Tabla 7. Comparación de las características de fermentación de la cepa *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126 frente a la cepa seleccionada *Saccharomyces cerevisiae* (M12), en la chicha de “molle” a 25° / 72 horas**

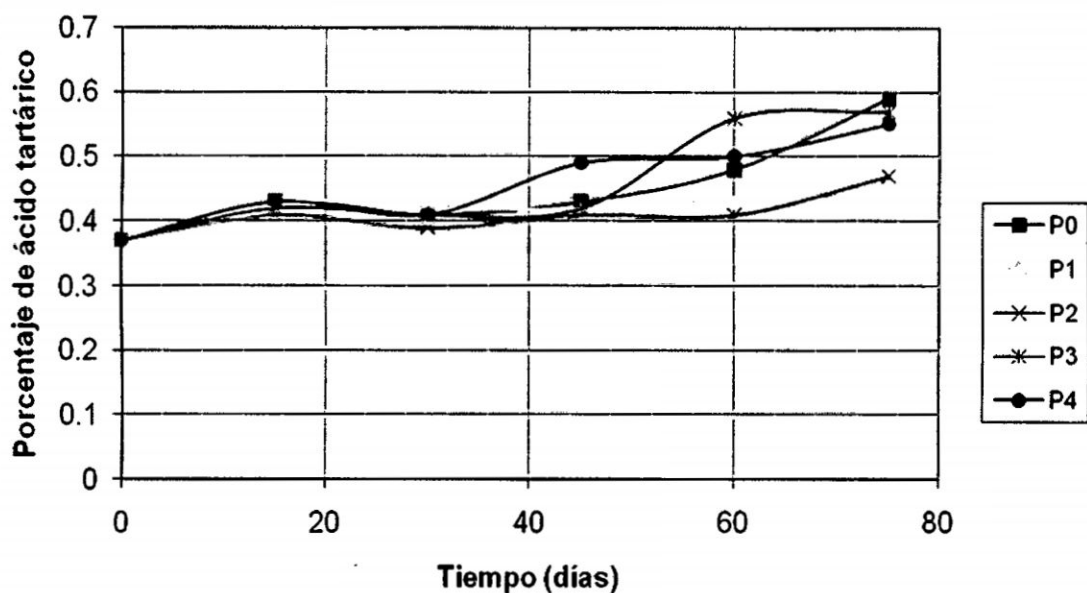
CEPA	%Etanol	° Brix (final de la fermentación)	Acidez (% Ac. tartárico)	Producción
ATCC 4126	8.3	5	0.371	100%
M12	7.1	6	0.378	87%



**Figura 6. Viabilidad de levaduras en las chichas de "molle" sometidas a diferentes tratamientos de conservación, utilizando la cepa M12 a 25°C /72 horas/15°Brix/75días**

**Leyenda:**

Código de Tratamiento	Preservante 01	Preservante 02	Pasteurización (60°c/ 15min)
P0	sin preservante	sin preservante	No
P1	metabisulfito (0,15g/L)	sin preservante	Si
P2	metabisulfito (0,15g/L)	Benzoato de sodio (0,15g/L)	No
P3	metabisulfito (0,15g/L)	Sorbato de potasio (0,15g/L)	No
P4	metabisulfito (0,15g/L)	Ácido ascórbico (0,05g/L)	no

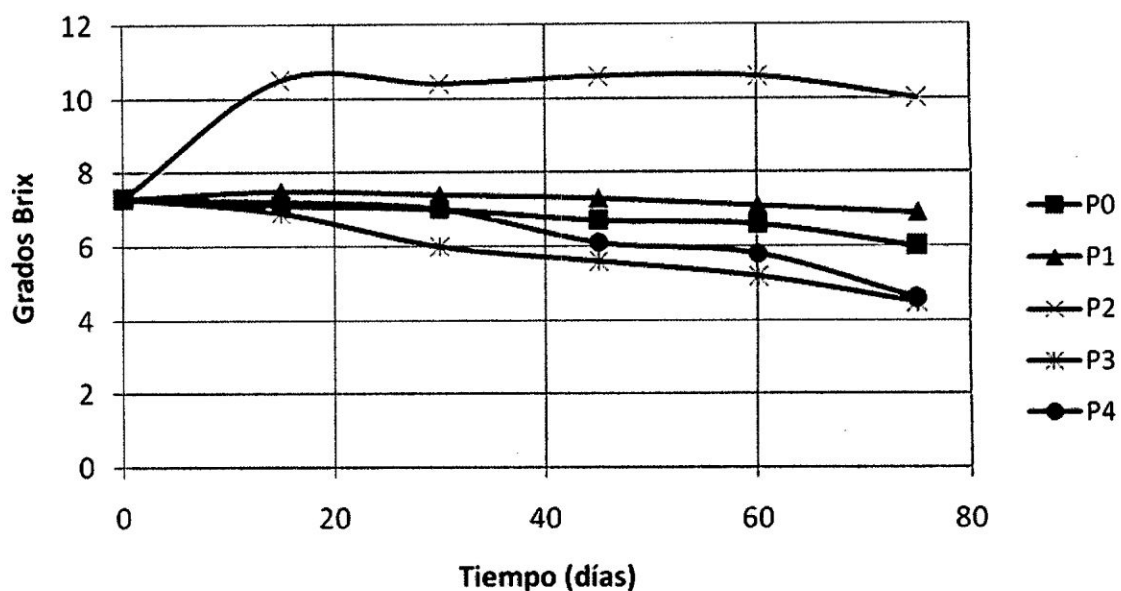


TRATAMIENTO	TIEMPO (d)					
	0	15	30	45	60	75
P0	0.37	0.43	0.41	0.43	0.48	0.59
P1	0.37	0.43	0.42	0.42	0.43	0.44
P2	0.37	0.41	0.39	0.41	0.41	0.47
P3	0.37	0.42	0.41	0.42	0.56	0.57
P4	0.37	0.43	0.41	0.49	0.50	0.55

**Figura 7. Porcentaje de acidez en la chicha de “molle” sometidas a diferentes tratamientos de conservación, utilizando la cepa M12 a 25°C /72 horas/15°Brix/75días**

**Leyenda:**

Código de Tratamiento	Preservante 01	Preservante 02	Pasteurización (60°c/ 15min)
P0	sin preservante	sin preservante	No
P1	metabisulfito (0,15g/L)	sin preservante	Si
P2	metabisulfito (0,15g/L)	Benzoato de sodio (0,15g/L)	No
P3	metabisulfito (0,15g/L)	Sorbato de potasio (0,15g/L)	No
P4	metabisulfito (0,15g/L)	Ácido ascórbico (0,05g/L)	no

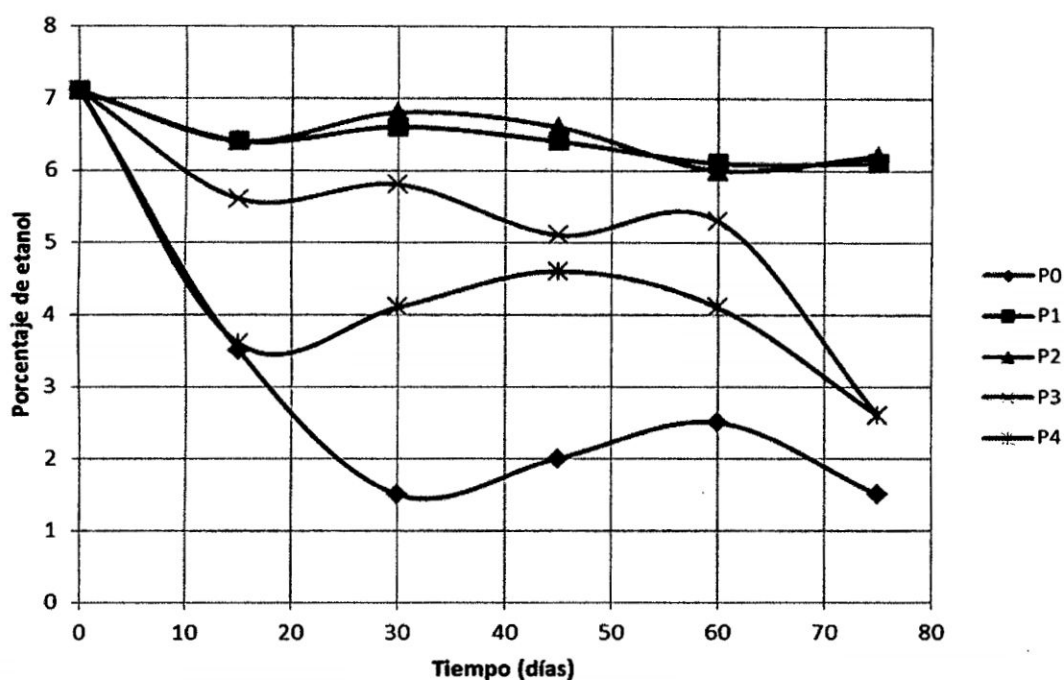


TRATAMIENTO	TIEMPO (d)					
	0	15	30	45	60	75
P0	7.3	7.1	7.0	6.7	6.6	6.0
P1	7.3	7.5	7.4	7.3	7.1	6.9
P2	7.3	10.5	10.4	10.6	10.6	10.0
P3	7.3	6.9	6.0	5.6	5.2	4.5
P4	7.3	7.2	7.0	6.1	5.8	4.6

**Figura 8. Grados Brix en las chicha de “molle” sometidas a diferentes tratamientos de conservación, utilizando la cepa M12 a 25°C /72 horas/15°Brix/75días**

**Leyenda:**

Código de Tratamiento	Preservante 01	Preservante 02	Pasteurización (60°c/ 15min)
P0	sin preservante	sin preservante	No
P1	metabisulfito (0,15g/L)	sin preservante	Si
P2	metabisulfito (0,15g/L)	Benzoato de sodio (0,15g/L)	No
P3	metabisulfito (0,15g/L)	Sorbato de potasio (0,15g/L)	No
P4	metabisulfito (0,15g/L)	Ácido ascórbico (0,05g/L)	no



TRATAMIENTO	TIEMPO (d)					
	0	15	30	45	60	75
P0	7.1	3.5	1.5	2.0	2.5	1.5
P1	7.1	6.4	6.7	6.6	6.2	6.2
P2	7.1	6.4	6.8	6.6	6.0	6.2
P3	7.1	5.6	5.8	5.1	5.3	2.6
P4	7.1	3.6	4.1	4.6	4.1	2.6

**Figura 9. Porcentaje de etanol en las chicha de “molle” sometidas a diferentes tratamientos de conservación, utilizando la cepa M12 a 25°C /72 horas/15°Brix/75días**

**Leyenda:**

Código de Tratamiento	Preservante 01	Preservante 02	Pasteurización (60°C/ 15min)
P0	sin preservante	sin preservante	No
P1	metabisulfito (0,15g/L)	sin preservante	Si
P2	metabisulfito (0,15g/L)	Benzoato de sodio (0,15g/L)	No
P3	metabisulfito (0,15g/L)	Sorbato de potasio (0,15g/L)	No
P4	metabisulfito (0,15g/L)	Ácido ascórbico (0,05g/L)	no

**Tabla 8. Evaluación del sabor en las chicha de “molle” sometidas a diferentes tratamientos de conservación al final de los días de prueba (75 días), utilizando la cepa M12 a 25°C /72 horas/15°Brix**

Panelista	Tratamiento				
	P0	P1	P2	P3	P4
1	2	8	4	2	1
2	3	7	5	1	1
3	4	8	4	2	1
4	3	9	5	2	2
5	2	8	5	1	1
6	3	8	6	1	1
7	4	9	5	2	1
8	2	7	5	1	1
9	2	8	4	2	1
10	3	9	5	1	1

**Leyenda:**

Código de Tratamiento	Preservante 01	Preservante 02	Pasteurización (60°c/ 15min)
P0	sin preservante	sin preservante	No
P1	metabisulfito (0,15g/L)	sin preservante	Si
P2	metabisulfito (0,15g/L)	Benzoato de sodio (0,15g/L)	No
P3	metabisulfito (0,15g/L)	Sorbato de potasio (0,15g/L)	No
P4	metabisulfito (0,15g/L)	Ácido ascórbico (0,05g/L)	no

## V. DISCUSIONES

La Tabla 3, reporta cuatro cepas aisladas de levaduras del género *Saccharomyces*; identificadas mediante la prueba de fermentación de azúcares, siendo las siguientes: *Saccharomyces uvarum*, *Saccharomyces carlsbergensis*, *Saccharomyces logos*, *Saccharomyces cerevisiae*; y dos cepas de *Saccharomyces sp.* No identificadas mediante la tabla de fermentación de azúcares (Anexo 1). *Saccharomyces logos* y *Saccharomyces cerevisiae* fueron también reportadas por Mujica et al., 2004. En el anexo 2, se puede apreciar las formas esféricas u ovals diferenciables de las levaduras del género *Saccharomyces*.

La Figura 3, muestra tres tiempos y tres temperaturas para el remojo del mosto, se observa mayor concentración de azúcares solubles a 2 horas por 70°C y a 3 horas por 70°C; sin embargo la prueba organoléptica (Tabla 4) evidencia una notable aceptación del 70% de los panelistas con el sabor dulce y el mínimo amargor característico de la semilla de molle. Por tanto el tratamiento seleccionado para el mosto fue el de 2 horas por 50°C para su producción.

La Tabla 4, muestra los sabores obtenidos en el tratamiento del mosto como porcentaje de degustadores semientrenados que califican a la bebida como agradable, regular o desagradable, donde destaca el sabor obtenido a 2 horas y 50°C de remojo del mosto. Esta prueba tuvo el objetivo de minimizar el sabor amargo que se obtiene de la semilla del molle cuando este ya perdió su capacidad para solubilizar azúcares solubles al mosto y evitar en lo posible la disolución de otros componentes que fermenten en productos como metanol, tóxico para el consumo humano. Para el diseño experimental de esta prueba se tuvo en cuenta los alcances de Limaylla (1995) y Mujica et al., (2004), donde mencionan que para la separación de azúcares de los frutos de molle es por

maceración usando como solvente agua tibia por 12 horas. No se encontraron reportes en otras investigaciones.

La Figura 4, visualiza la producción de etanol de las 12 cepas aisladas a 25°C por 72 horas sin adición de sacarosa. Destacan las cepas M2 (*Saccharomyces uvarum*) con 5.4% de etanol, M5 (*Saccharomyces sp.*) con 5.4% de etanol, M12 (*Saccharomyces cerevisiae*) con 5.5% de etanol y M11 (*Saccharomyces carlsbergensis*) con 5.6% de etanol; se tomó como criterio de selección el mayor porcentaje de etanol producido, se seleccionó este criterio debido al alto interés en cepas que toleren cantidades elevadas de alcohol como menciona Ortiz (2000).

La Tabla 5, exhibe la optimización de parámetros de fermentación en la chicha de "molle" utilizando la cepa M11 (*Saccharomyces carlsbergensis*), el análisis estadístico prueba de Túkey con una significancia del 0.05 (anexo 7) evidencia que la cantidad de azúcar en la prueba no afecta la producción de alcohol de esta cepa; más si la temperatura, dividiéndolo en dos sub conjuntos homogéneos en donde las temperaturas de 30°C y 35°C obtienen el mayor porcentaje de etanol. La mayor producción de etanol se obtuvo a 30°C y 15°Brix con 5.6% de etanol.

La Tabla 6, muestra la optimización de los parámetros de fermentación en la chicha de "molle" utilizando la cepa M12 (*Saccharomyces cerevisiae*), el análisis estadístico prueba de Túkey con una significancia del 0.05 (anexo 8) evidencia que tanto el porcentaje de azúcar y la temperatura experimentada influyen en la cantidad de etanol producida por esta cepa. Siendo el tratamiento escogido para las pruebas de conservación el de 25°C y 15°Brix con 7.1° de etanol.

La Figura 5, presenta los efectos de la variación de la temperatura y °Brix en las dos cepas seleccionadas con 72 horas de fermentación, destaca la *Saccharomyces cerevisiae* (M12) a 25°C y 15° Brix con 7.1% de etanol; siendo esta la cepa escogida debido a la mayor producción de etanol. Mujica et al., 2004. Reportó parámetros de producción en una cepa *Saccharomyces logos* obteniendo 11.68% de etanol a 30°C, pH 5 y una proporción de molle: agua de 1:2. Los resultados difieren en cuanto a la cepa seleccionada, y al porcentaje de etanol.

La Tabla 7, indica una diferencia del 13% en la producción de la cepa seleccionada *Saccharomyces cerevisiae* (M12) en comparación con la cepa

*Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126. Considerando a la cepa M12 con un gran potencial para la producción a escala industrial de esta bebida.

La Figura 6, muestra la viabilidad de levaduras del producto sometido a diferentes tratamientos de conservación, destacando el tratamiento de pasteurización más metabisulfito (P1) y benzoato de sodio más metabisulfito (P2). La pasteurización minimiza las formas vegetativas de las levaduras y gérmenes patológicos que alteran los alimentos, debido a su parcial eliminación recomiendan adicionar otro método de conservación; el SO<sub>2</sub> se une al acetaldehído e inhibe algunas reacciones de oxidación indeseables, además inhibe algunas bacterias indeseables como las bacterias del ácido láctico y acético como menciona Ortiz el 2000. El benzoato de sodio elimina las formas vegetativas de bacterias, levaduras y mohos; sin embargo, en cantidades elevadas es muy tóxico por lo que su uso es restringido. Por lo que esta prueba muestra que la mejor opción para conservar la chicha de "molle" es mediante pasteurización y metabisulfito.

La Figura 7, expone el porcentaje de acidez de la chicha de "molle" sometidas a diferentes tratamientos de conservación, donde destacan los tratamientos de pasteurización más metabisulfito (P1) variando de 0,37% a 0,4% y benzoato de sodio más metabisulfito (P2) variando de 0,37 a 0,47%, manteniéndose menos inalterables durante los días de prueba.

La Figura 8, reporta la variación de los °Brix de la chicha de "molle" sometida diferentes tratamientos de conservación, donde destacan los tratamientos de pasteurización más metabisulfito (P1) y benzoato de sodio más metabisulfito (P2), manteniéndose menos inalterables durante los días de prueba; se observa un incremento de °Brix en el tratamiento con benzoato de sodio, según reporta la bibliografía este producto es también un acidulante modificando fuertemente las características de la bebida. Por lo que en este caso también el tratamiento de pasteurización más metabisulfito muestra tener mayores ventajas.

La Figura 9, señala el porcentaje de etanol de la chicha de "molle" sometidas a diferentes tratamientos de conservación, donde es claramente visible que los tratamientos de pasteurización más metabisulfito (P1) y benzoato de sodio más metabisulfito (P2) se mantienen menos inalterables durante los días de prueba, manteniendo un constante grado etanólico de 7,1% a 6,2%.

La Tabla 8, presenta la evaluación del sabor de la chicha de "molle" sometidas a diferentes tratamientos de conservación al final de los días de prueba (75 días),

el análisis estadístico prueba de Túkey con una significancia del 0.05 (anexo 9) evidencia una mayor aceptación del tratamiento de pasteurización con metabisulfito; este resultado difiere del obtenido por Florio (1986), en la "chicha de jora" donde señala que la pasteurización a 60°C por 15 minutos modifica desagradablemente el sabor en el producto. Florio también señala que las características fisicoquímicas de la "chicha de jora" al utilizar tecnología cervecera no ofrece cambios significativos; pero que si cambia las características organolépticas.

## VI. CONCLUSIONES

1. Se aislaron e identificaron cuatro cepas de levaduras: *Saccharomyces uvarum* (localidad de Ñeque), *Saccharomyces carlsbergensis* (distritos de Santa Elena y San Juan), *Saccharomyces logos* (distritos de Santa Elena y San Juan), *Saccharomyces cerevisiae* (distrito de San Juan); y dos cepas de *Saccharomyces sp.*(localidad de Santa Bárbara)
2. Se optimizaron los parámetros de temperatura y tiempo de maceración del mosto para la extracción de los azúcares solubles de los frutos del "molle" a 50°C por 2 horas. Para la fermentación de la chicha de "molle" se obtuvo la temperatura de 25°C y 15°Brix de sacarosa añadido durante 72 horas para producir 7.1° de etanol con la cepa de *Saccharomyces cerevisiae* aislada del distrito de San Juan.
3. Se determinó el tratamiento de metabisulfito (0,15g/L) y pasteurización a 60°C/ 15 min en botella, como mejor método de conservación durante 75 días de la chicha de "molle", debido a que mantiene las características de la bebida con menos variación que los demás tratamientos.

## **VII. RECOMENDACIONES**

1. Optimizar la calidad de la semilla para la preparación de la chicha de "molle" y los procesos previos a la fermentación, que tienen importancia para dar mayor rentabilidad al producto si se desea llevar a escala industrial.
2. Realizar ensayos de gasificación como una alternativa para la preservación de la chicha de "molle", con otras tecnologías alternativas de radiación y altas presiones
3. Realizar pruebas de control de calidad en cuanto a toxicidad, como cuantificar el metanol en el producto y tratar de minimizarlo, ya que sería uno de los limitantes para su industrialización.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bush C. Consideraciones Médico-Sociales de la Chicha de Jora. Periódico Excelsior N 217, Perú, mayo de 1952.
2. Zarzoso E.; Torán P.; García E.; Uruburu F. y Querol A. Yeast population dynamics during the fermentation and biological aging of sherry wines. Trabajo de investigación del Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos. España. 2001.
3. Cavero R. Maíz, Chicha y Religiosidad andina. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. 1986.
4. Limaylla C. Estudio integral de los frutos de "molle": Trabajo de investigación de la Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia UNSCH. Ayacucho – Perú. 1995.
5. Florio E. Estudio de la fermentación de chicha de jora. [Tesis pregrado]. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina. 1986.
6. Brook T Madigan M. Biología de los microorganismos. 10<sup>ma</sup> ed. México D.F: Prentice Hall Hispanoamericana S.A. 2003.
7. Mujica F.; García Gódos, P. y Palomino, S. Fermentación experimental de chicha de molle con levaduras seleccionadas: trabajo de investigación de la Facultad de Ciencias Biológicas UNSCH. Ayacucho – Perú. 2004.
8. Carretero F. Innovación Tecnológica en la Industria de Bebidas. España: Universidad de Ingeniería Industrial de Barcelona. 2006.
9. García Gódos P. Evaluación de bacterias lácticas aisladas a partir de chicha de molle con capacidad antagónica frente a cepas patógenas: trabajo de investigación de la Facultad de Ciencia Biológicas UNSCH. Ayacucho – Perú. 2008.
10. Rodríguez J. Evaluación de la capacidad probiótica de bacterias lácticas aisladas de chicha de "molle". [Tesis pregrado]. Ayacucho: Facultad de Ciencias Biológicas UNSCH. 2009.
11. De la Peña M. y Pensiero J. Plantas Argentinas. Catálogo de Nombres Vulgares. Argentina: Editorial LOLA. 2004.
12. Sistema Nacional de Información Forestal. *Schinus molle*. [base de datos en internet]. México: Comisión Nacional Forestal 2008 - [fecha de acceso 25 de noviembre del 2012]. Disponible en: [http://148.223.105.188:2222/gif/snif\\_portal/secciones/usuarios/UsosPDF.php?especieURL=Schinusmolle](http://148.223.105.188:2222/gif/snif_portal/secciones/usuarios/UsosPDF.php?especieURL=Schinusmolle)
13. Cornejo V. Las Plantas y sus Utilidades. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. 1986.
14. Pérez E. Plantas Útiles de Colombia. Colombia: Editorial FONDO FEN COLOMBIA. 1996.
15. Mujica F. Caracterización bioquímica y tecnológica de bebidas fermentadas tradicionales: trabajo de Investigación de la Facultad de Ciencias Biológicas UNSCH. Ayacucho- Perú. 2003.
16. Valcárcel N. Fermentación alcohólica. . [base de datos en internet]. Bolivia: Universidad Nacional Pedagógica de Bolivia 2001 - [fecha de acceso 20 de agosto del 2012]. Disponible en: <http://nubiavalcarcel.wordpress.com/>
17. Ortiz F. Manual de Biotecnología Alimentaria: Programa de Ingeniería de Alimentos. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD. 2000.
18. Hough J. Biotecnología de la Cerveza y de la Malta. España: Editorial Acribia. 1990.
19. Giral J. Fermentos. México: Editorial La Casa de España. 1940.

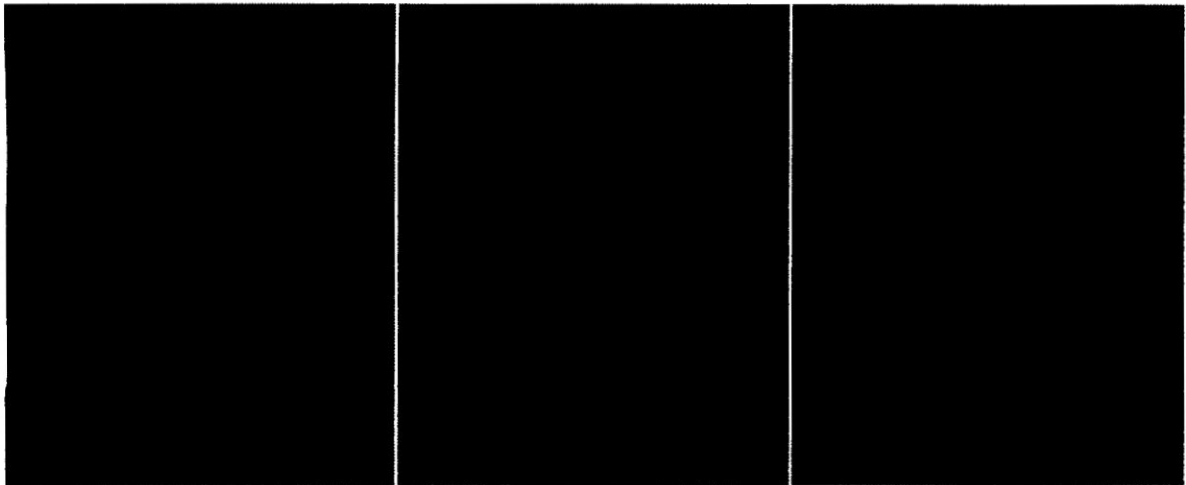
20. Haehn H. Bioquímica de las Fermentaciones. España: Editorial Aguilar. 1956.
21. García Gódos P.; Mujica F. y Palomino S. Manual de Prácticas de Laboratorio: Microbiología Industrial. Facultad de Ciencias Biológicas UNSCH. 2006.
22. Paniagua J. Manual de Prácticas de Laboratorio: Enología. Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia UNSCH. 2004.
23. Directiva 95/2/ce del parlamento europeo y del consejo [base de datos en internet] relativa a aditivos alimentarios distintos de los colorantes y edulcorantes. 20 de febrero de 1995 - [fecha de acceso 15 de noviembre del 2012]. Disponible en: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31995L0002:ES:NOT>
24. Hormazabal S. Uso de ácido ascórbico en vinificación. Importancia del oxígeno: trabajo de investigación de la Facultad de Agronomía de la Universidad Católica de Chile. 1998.
25. DeLong D. How to Dry Foods. U.S.A: Edit H. P. Books. 1992.

**ANEXOS**

Anexo 1. Identificación de levaduras del género *Saccharomyces* por su capacidad de fermentación de azúcares

ESPECIES	Glucosa	Galactosa	Sacarosa	Maltosa	Lactosa	Rafinosa
	F	F	F	F	F	F
<i>pasteri</i>	+	-	-	-	-	-
<i>mellis</i>	+	-	-	-	-	-
<i>baillii</i>	+	-	-	-	-	-
<i>bisporus</i>	+	-	-	-	-	-
<i>delbrueckii</i>	+	+f	-	-	-	-
<i>rouxii</i>	+	-	-	+f	-	-
<i>oviformis</i>	+	-	+	+	-	1/3
<i>pasterianus</i>	+	-	+	+	-	2/3
<i>cerev. ellip</i>	+	+f	+	+	-	1/3
<i>carlsbergensis</i>	+	+f	+	+	-	3/3
<i>logos</i>	+	+	+	+	-	3/3
<i>uvarum</i>	+	+f	+	+f	-	1/3
<i>lactis</i>	+	+	+	-	+	1/3
<i>italicus</i>	+	+	-	+	-	-
<i>fragilis</i>	+	+	+	-	+	1/3

Anexo 2. Levaduras del género *Saccharomyces* identificadas por su capacidad de fermentación de azúcares



a. *Saccharomyces uvarum*  
(10X x 40X)

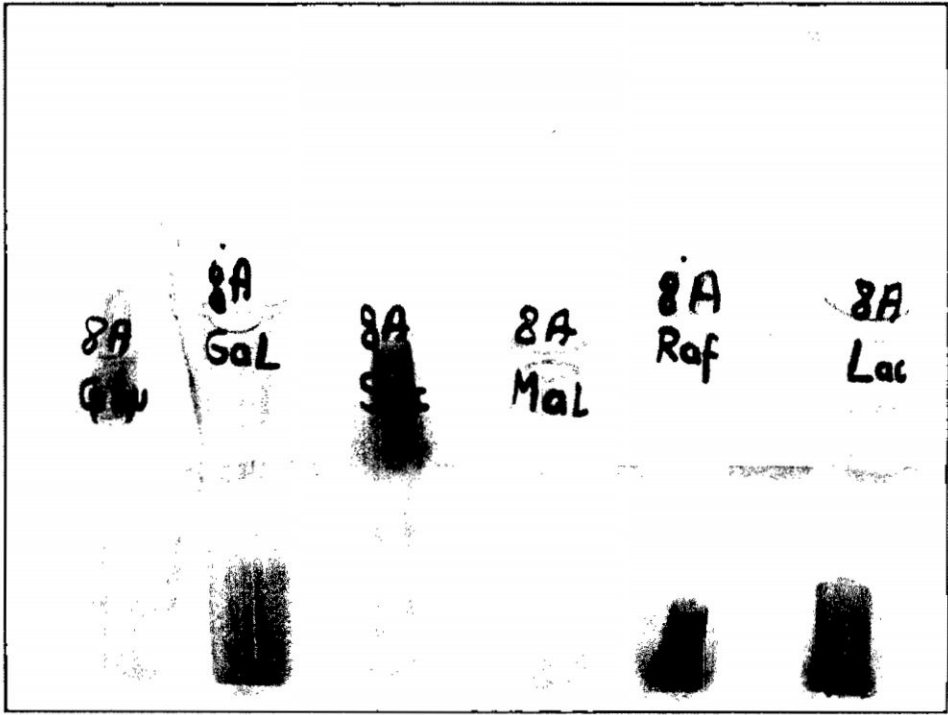
b. *Saccharomyces carlsbergensis*  
(10X x 40X)

c. *Saccharomyces logos*  
(10X x 40X)



d. *Saccharomyces cerevisiae* (10X x 40X)

Anexo 3. Técnica de identificación de levaduras del género *Saccharomyces* por su capacidad de fermentación de azúcares



Anexo 4. Unidades de fermentación



Anexo 5. Análisis estadístico de la evaluación de los °Brix en el mosto de la chicha de “molle” en diferentes tratamientos

ANOVA  $p < 0,05$

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	329,893	4	82,473	210,046	,000
Intra-grupos	17,669	45	,393		
Total	347,562	49			

Pruebas de efectos inter-sujetos para los tratamientos

Variable dependiente : °Brix

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	59,248 <sup>a</sup>	8	7,406	1851,500	,000
Intercept	8217,458	1	8217,458	2054364,500	,000
Tiempo	6,789	2	3,395	848,667	,000
Temperatura	48,569	2	24,285	6071,167	,000
Tiempo * Temperatura	3,889	4	,972	243,083	,000
Error	,144	36	,004		
Total	8276,850	45			
Corrected Total	59,392	44			

a. R Squared = .998 (Adjusted R Squared = .997)

Anexo 6. Análisis estadístico para la producción de etanol de la chicha de "molle" fermentada con diferentes cepas de levaduras a 25°C por 72 horas

ANOVA  $p < 0,05$

ETANOL

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	50,802	11	4,618	692,758	,000
Intra-grupos	,160	24	,007		
Total	50,962	35			

Comparaciones múltiples

Duncan<sup>a</sup>

CEP	N	Subconjunto para alfa = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
9	3	2,0000							
4	3		2,4000						
7	3			2,9333					
3	3				3,8667				
10	3				3,8667				
8	3				3,9000				
6	3					4,4000			
1	3						4,9333		
2	3							5,3667	
5	3							5,4000	
12	3							5,4667	5,4667
11	3								5,6000
Sig.		1,000	1,000	1,000	,642	1,000	1,000	,169	,057

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

Anexo 7. Análisis estadístico para la optimización de los parámetros de fermentación de la chicha de “molle” con la cepa M11

Variables independientes		
		N
°Brix	8,00	9
	10,00	9
	15,00	9
Temperatura	25,00	9
	30,00	9
	35,00	9

Pruebas de los efectos inter-sujetos  $p < 0,05$

Variable dependiente: Etanol

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	20,127 <sup>a</sup>	8	2,516	452,850	,000
Intersección	494,083	1	494,083	88935,000	,000
°Brix	1,727	2	,863	155,400	,000
Temperatura	16,149	2	8,074	1453,400	,000
°Brix * Temperatura	2,251	4	,563	101,300	,000
Error	,100	18	,006		
Total	514,310	27			
Total corregida	20,227	26			

a. R cuadrado = .995 (R cuadrado corregida = .993)

Anexo 8. Análisis estadístico para la optimización de los parámetros de fermentación de la chicha de “molle” con la cepa M12

Variables independientes		
		N
°Brix	8,00	9
	10,00	9
	15,00	9
Temperatura	25,00	9
	30,00	9
	35,00	9

Pruebas de los efectos inter-sujetos  $p < 0,05$

Variable dependiente: Etanol

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	10,592 <sup>a</sup>	8	1,324	188,145	,000
Intersección	2813,161	1	2813,161	399765,053	,000
°Brix	3,712	2	1,856	263,737	,000
Temperatura	5,645	2	2,823	401,105	,000
°Brix * Temperatura	1,235	4	,309	43,868	,000
Error	,127	18	,007		
Total	2823,880	27			
Total corregida	10,719	26			

a. R cuadrado = .988 (R cuadrado corregida = .983)

Anexo 9. Análisis estadístico para la evaluación del sabor en las chicha de "molle" sometidas a diferentes tratamientos de conservación al inicio y al final de los días de prueba, utilizando la cepa M12 a 25°C /72 horas/15°Brix

ANOVA  $p < 0,05$

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	329,893	4	82,473	210,046	,000
Intra-grupos	17,669	45	,393		
Total	347,562	49			

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Etanol

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	9,814 <sup>a</sup>	8	1,227	184,014	,000
Intersección	1145,956	1	1145,956	171893,389	,000
°Brix	3,179	2	1,589	238,389	,000
Temperatura	5,099	2	2,549	382,389	,000
°Brix * Temperatura	1,537	4	,384	57,639	,000
Error	,120	18	,007		
Total	1155,890	27			
Total corregida	9,934	26			

a. R cuadrado = .988 (R cuadrado corregida = .983)

## Anexo 10. Técnicas de análisis

### a. Determinación de etanol por microdestilación

#### Reactivos:

*Solución de dicromato de potasio:* se añade 325ml de ácido sulfúrico concentrado a unos 400 ml de agua, se mezcla bien, se enfría a 80 – 90 °C y se vierten en un matraz aforado de 1 litro. Se añade 33.768g de dicromato de potasio tipo primario y se diluye la solución con agua a 20 °C hasta el enrase.

*Solución de sulfato ferroso amónico (0.32 N):* se prepara disolviendo 135.5 g de sal hexahidratada:  $\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , en 500 ml de agua, añadiendo 30 ml de ácido sulfúrico concentrado y diluyendo todo a 1 litro con agua a 20 °C en una fiola aforada.

*Solución indicador o-fenantrolina:* se prepara disolviendo 0.695 g de sulfato ferroso heptahidratado en unos 50 ml de agua a la que se adicionan 1.485 g de o-fenantrolina diluyendo todo con agua a 100 ml en una fiola aforada.

#### Técnica:

1. La muestra a destilar se pone en un baño a 20°C hasta lograr equilibrio por 5 minutos.
2. hacer hervir el generador de vapor con el tubo al aire abierto.
3. colocar el matraz colector, con 25 ml de solución de dicromato, debajo del refrigerante y luego abrir el paso del agua a éste.
4. verter 1 ml de muestra en el bulbo de destilación y diluir con agua hasta llenar aproximadamente 1 tercio del mismo.
5. cerrar el tubo al aire, con lo que el vapor comienza a arrastrar el alcohol,
6. colocar un baño de agua para mantener el líquido en el bulbo de destilación a temperatura constante.
7. recoger 15 ml de muestra en el matraz colector luego retirarlo y abrir el tubo al aire.
8. tapar y colocar en un baño de agua a 60°C por 20 – 25 minutos para oxidación completa.
9. transferir el contenido a un matraz de 500 ml y valorar usando la solución de sulfato ferroso amónico hasta una coloración verde, añadir 5-6 gotas de indicador o-fenantrolina y proseguir la valoración hasta cambio al color púrpura parduzco valorar el blanco usando agua destilada.
10. para calcular los resultados se usa la siguiente fórmula:

$$\% \text{de etanol} = \left[ 25 - 25 (A / B) \right] \times 100$$

Donde:

A = volumen en mililitros de solución de sulfato ferroso amónico consumidos en la valoración del exceso de dicromato.

B = Volumen en mililitros de solución de sulfato ferroso amónico consumidos en la valoración del blanco.

### b. Determinación de la acidez total por titulación:

Método para vinos: eliminar el  $\text{CO}_2$  si está presente, por alguno de los métodos siguientes:

- Colocar 25 ml de muestra en un pequeño erlenmeyer y conectarlo a una trompa de aspiración de agua. Agitar 1 min. con vacío.
- Colocar 25 ml de muestra en un pequeño erlenmeyer, calentar a ebullición incipiente y mantener 30s. Agitar y enfriar. El anhídrido carbónico y el

anhídrido sulfuroso libre y combinado no están comprendidos en la acidez total.

Para la determinación de acidez, medir 10 ml de muestra con pipeta de doble aforo y colocarlos en un erlenmeyer de 150 – 200 ml de capacidad. Titular con solución de NaOH 0.1N. El punto final de apreciará de la siguiente forma:

- Vinos blancos: empleando como indicador 5 gotas de fenolftaleína en solución alcohólica al 1%. Se dará por terminada la titulación cuando el líquido adquiera un color rosado persistente.
- Vinos tintos: se considera terminada la titulación cuando se observa un enturbiamiento, o cuando el vino vire a verde.

Expresar la acidez total en gramos de ácido tartárico por litro.

$$\text{Ácido tartárico g /100 ml} = \frac{(V) (N) (0.075) (100)}{(v)}$$

Dónde:

V = volumen del NaOH consumido en la valoración del vino en ml.

N = normalidad de la disolución del NaOH.

v = volumen de la muestra en ml.

#### c. Aislamiento e identificación de levaduras del género *Saccharomyces*

Aislamiento:

- Tomar 1 ml de muestra (chicha) y diluir en 9 ml de agua peptonada.
- Realizar una siembra por estrías en agar sabouraud e incubar a 25 - 30 °C por 48 - 72 horas.
- Observar el desarrollo de colonias características (enteras, cremosas, blanquecinas).
- Efectuar un examen microscópico para observar la forma y tamaño.
- Aislar colonias representativas y repicarlas en agar sabouraud inclinado.
- Identificación: Fermentación de azúcares.
- Preparar un autorizado de levadura del siguiente modo: pesar 100g de levadura granulada (Red Star o Fleishman), diluir en 500 ml de agua destilada, autoclavar, filtrar y neutralizar.
- Preparar el agua de levadura del siguiente modo: mezclar 125 ml de autorizado filtrado con 500 ml de agua destilada, neutralizar y esterilizar.
- Obtener un cultivo joven de 24h de cada colonia representativa, en caldo YM.
- Prepara soluciones de azúcares al 1% (glucosa, galactosa, sacarosa, maltosa, lactosa y rafinosa) en agua de levadura y disponer 10 ml en cada uno de los tubos con campanas de Durham.
- Sembrar 1ml de cada cultivo joven e incubar a 25 – 30 °C por 24 – 48 h.
- Prepara con testigo con la cepa de *Saccharomyces cerevisiae*.
- La fermentación de azúcar se confirma por la acumulación de CO<sub>2</sub> en las campanas de Durham.

#### d. Determinación de viabilidad en levaduras:

- Mediante pipeta de toma succionar la muestra hasta las marca de 0,5. Luego succionar el azul de metileno diluido hasta la marca de 1,1.
- Homogenizar mediante agitación la mezcla y colocar en la cámara de New Bawer.

- Utilizar los espacios para conteo de leucocitos y sacar un promedio del número de células coloreadas (muertas) y número de células sin colorear (vivas).

$$\% \text{ de viabilidad} = \text{N}^{\circ} \text{ cel. sin colorear} / \text{total de células} \times 100$$

e. Análisis del sabor:

Participaron diez panelistas, a los cuales se les explica la naturaleza de la muestra. Ésta se dispone en tres vasos de vidrio codificados, estas debían ser escupidas luego de la degustación y disponer de agua destilada para enjuagarse. A los evaluadores se les instruyó para que presentaran atención en:

- Selección aleatoria
- Observación de la apariencia.
- Leve agitación de la bebida para luego obtener una calificación del aroma.
- Degustación de la bebida y su posterior calificación.

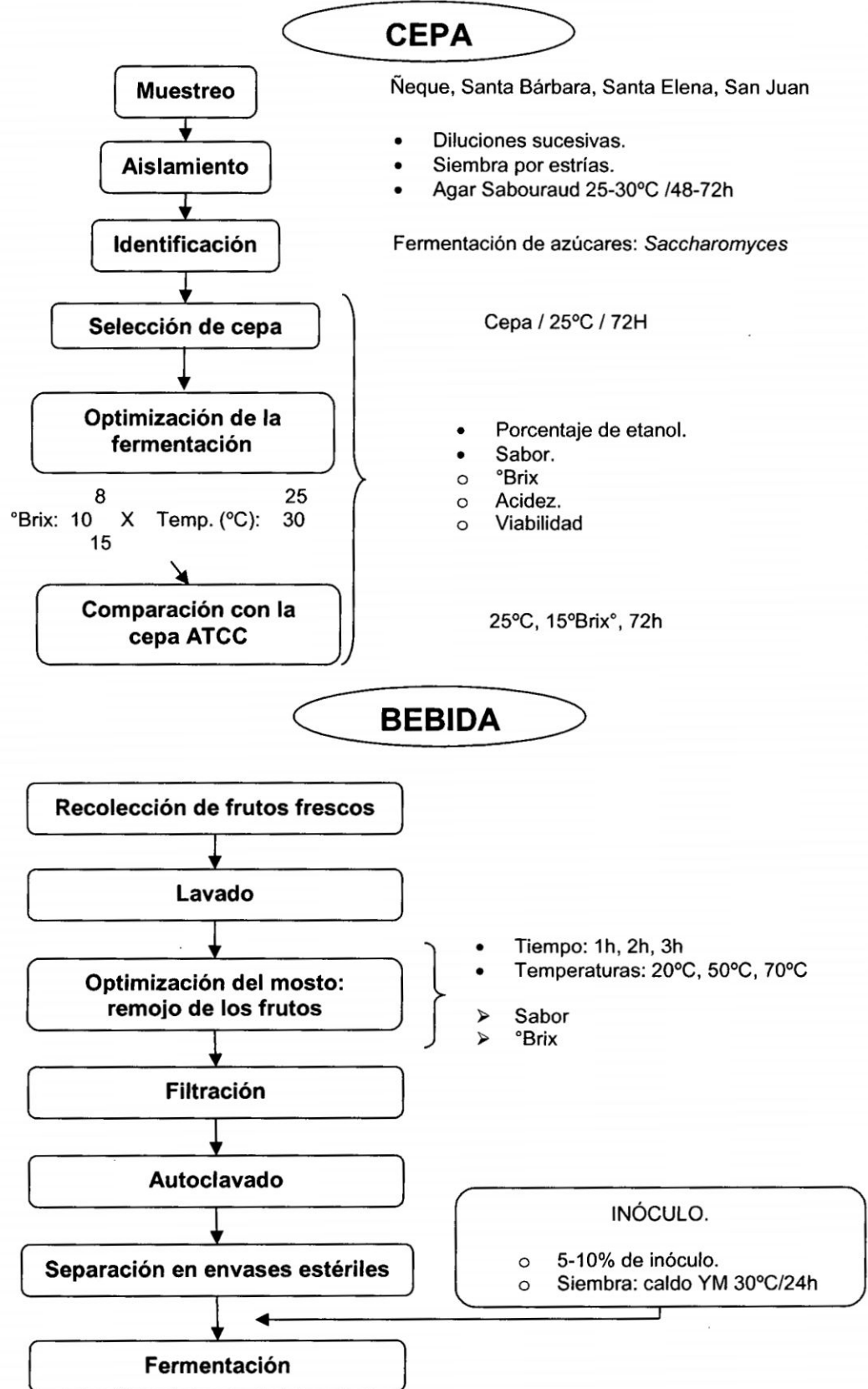
Posteriormente se les pidió un calificativo de la bebida de agradable, regular y desagradable, para el mosto; y una escala del 1 al 10 según el grado de aceptación de menor a mayor para las muestras con 75 días de fermentación. Se utilizó el ANOVA para el análisis de datos  $p < 0,05$ .

Anexo 11. Directiva 95/2/CE del parlamento europeo y del consejo, del 20 de febrero de 1995. Relativa a aditivos alimentarios distintos de los colorantes y edulcorantes

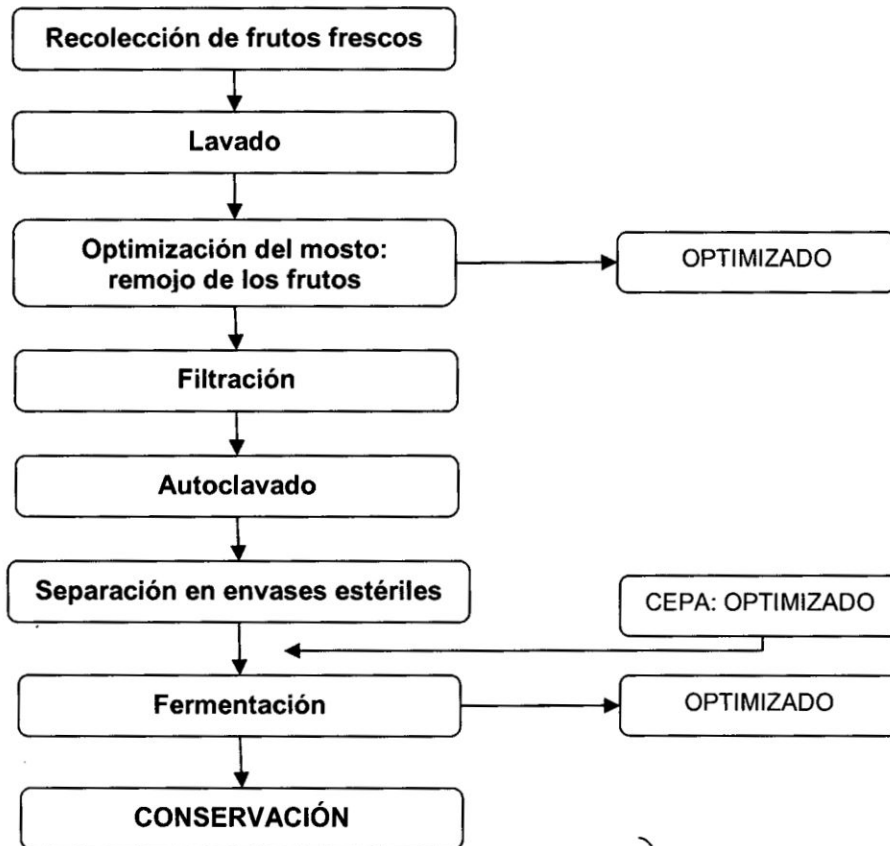
Producto alimenticio	Aditivo	Dosis Máxima (mg/kg o mg/l, según proceda)
Bebidas espirituosas de grado alcohólico volumétrico inferior al 15 %	Benzoato de sodio E 211	200
Vinos contemplados en el Reglamento (CEE) No 822/87 vino sin alcohol, vinos de frutas (incluidos los sin alcohol); <i>Made wine</i> ; sidra y perada (incluidas las sin alcohol)	Sorbato de potasio E 202	200
cerveza	Ácido ascórbico E 300	<i>quantum satis</i> *
Sidra, perada, vino de frutas, vino espumoso de frutas (incluidos los productos sin alcohol)	Bisulfito sódico o Meta bisulfito E 223	200

\**quantum satis* significa que no se especifica ningún nivel máximo. No obstante, los aditivos se utilizarán con arreglo a la práctica de fabricación correcta a un nivel que no sea superior al necesario para conseguir el objetivo pretendido y a condición de que no confundan al consumidor.

Anexo 12. Protocolo experimental para la producción de chicha de "molle" y la optimización de parámetros



# CONSERVACIÓN



- Control
- Metabisulfito + pasteurización
- Metabisulfito + benzoato de sodio
- Metabisulfito + sorbato de potasio
- Metabisulfito + ácido ascórbico



- 0 d
- 15d
- 30d
- 45d
- 60d
- 75d

- Porcentaje de etanol.
- Sabor.
- °Brix
- Acidez.
- Viabilidad

# MATRIZ DE CONSISTENCIA

AUTOR: Bach. Freddy Juárez Rojas

METODOLOGÍA

AYACUCHO 2008

VARIABLES

HIPÓTESIS

MARCO TEÓRICO

OBJETIVO

POBLACIÓN:

Variable independiente:

Los parámetros adecuados permitirán la producción y envasado de chicha Schinus molle "molle"

Chichas de "molle" de lugares con tradición productora en la provincia de Huamanga  
Diseño Metodológico:

Cepas de levaduras, tratamientos de producción y envasado de chicha de "molle"

Variable dependiente:

% etanol.  
°Brix del producto.  
Viabilidad de levaduras.  
% acidez.  
Sabor

La investigación científica se plantea usando en el método experimental.

El proceso comprende las siguientes etapas:

- Aislamientos e identificación de cepas productoras de chicha de molle.
- Selección de la mejor cepa productora de etanol
- Optimización de la preparación del mosto.
- Optimización de los parámetros de fermentación
- Optimización de los tratamientos de preservación

TÍTULO: Optimización de parámetros para la producción y envasado de chicha de Schinus molle: "molle". Ayacucho 2008

PROBLEMA

¿Se logrará optimizar parámetros para la producción y envasado de chicha de Schinus molle, "molle"?

Objetivos:

Específicos:

3. Aislar e identificar cepas de levaduras productoras de chicha de "molle".
4. Optimizar parámetros de producción de chicha de "molle".
5. Optimizar las concentraciones de preservantes para el envasado de chicha de "molle".

La chicha de "molle", además de ser una bebida refrescante y embriagadora, es un producto terapéutico, ya que se utiliza para aliviar las irritaciones hepáticas aún crónicas. En medicina folklórica las hojas y las flores se utilizan como cataplasmas calientes contra el reumatismo y otros dolores musculares. Las infusiones de hojas junto con hojas de eucalipto, y en inhalaciones, son usadas para el alivio de afecciones bronquiales.<sup>13</sup>

Las levaduras son hongos unicelulares la mayoría provenientes de los Ascomycetes, normalmente son ovoides, esféricas o casi cilíndricas y la división es casi asimétrica o por gemación. Las levaduras prosperan típicamente en hábitat con azúcares, tales como frutos, flores y corteza de los árboles, un buen número vive simbiote con animales, especialmente insectos y algunas son patógenas para animales, incluido el hombre. La levadura de interés industrial es la *Saccharomyces cerevisiae*, el hábitat original de esta levadura son las frutas o zumos de frutas, pero las levaduras comerciales de hoy en día son muy diferentes a su ancestro silvestre, ya que ha sido manipulada por el hombre voluntaria e involuntariamente durante los últimos 7000 años, fue el primer eucariota cuyo genoma se secuenció por primera vez.<sup>6</sup>

Los aspectos más importantes a tener en cuenta en cuanto a la elaboración de una bebida alcohólica son: la cepa donde destaca la importancia de aislarla e identificarla, azúcares solubles que se puede determinar usando refractometría y densidad, el porcentaje de etanol determinado por microdestilación y la viabilidad de las levaduras usando la técnica de azul de metileno.<sup>21</sup>