

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI

POSGRADO



MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

“Diversidad microbiana de la chicha de jora: un estudio metagenómico”

Trabajo de Titulación previa la obtención del
Título de Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Autora: Jurado Navarrete Karla Noelia

Tutora: Yambay Vallejo Wilman Jenny

Tulcán, 2024

CERTIFICADO DEL TUTOR

Certifico que la maestrante Jurado Navarrete Karla Noelia con el número de cédula 0401830484 ha elaborado el trabajo de titulación: “Diversidad microbiana de la chicha de jora: un estudio metagenómico”

Este trabajo se sujeta a las normas y metodología dispuestas en la Codificación del Reglamento de Régimen Académico y de Estudiantes de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi con Resolución N° 171-CSUP- 2023, por lo tanto, autorizo su presentación para la sustentación respectiva



Yambay Vallejo Wilman Jenny

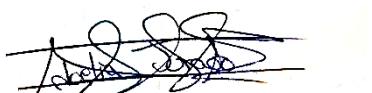
TUTORA

Tulcán, noviembre de 2024

AUTORÍA DE TRABAJO

El presente trabajo de titulación constituye un requisito previo para la obtención del título de Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos.

Yo, Jurado Navarrete Karla Noelia con cédula de identidad número 0401830484 declaro: que la investigación es absolutamente original, auténtica, personal y los resultados junto con las conclusiones a las que he llegado son de mi absoluta responsabilidad.



f.....

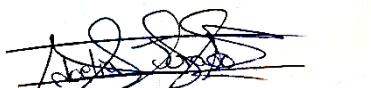
Jurado Navarrete Karla Noelia

AUTORA

Tulcán, noviembre de 2024

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Jurado Navarrete Karla Noelia declaro ser autora de los criterios emitidos en el trabajo de titulación: “Diversidad microbiana de la chicha de jora: un estudio metagenómico” y eximo expresamente a la Universidad Politécnica Estatal del Carchi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.



f.....

Jurado Navarrete Karla Noelia

AUTORA

Tulcán, noviembre de 2024

AGRADECIMIENTO

Al alma mater en donde terminé la ingeniería agradezco por abrir las puertas del conocimiento y formar a personas de bien y profesionales capaces de solucionar problemas enalteciendo la humildad y el compromiso de servir al pueblo

Agradezco también a todas las personas que permanecieron a mi lado y me apoyaron para culminar este sueño

Karla Noelia Jurado Navarrete

DEDICATORIA

Mis padres amados Marcelo y Lorena este logro es para ustedes porque han sido mi motor y apoyo incondicional, mi roca y mi guía. Gracias a ustedes he logrado lo que he soñado, me han dado la mano en cada caída y han ayudado a levantarme para continuar. Gracias por sus sacrificios incansables, son mi mayor ejemplo y motivación. Han formado en mí una persona con carácter fuerte y sobre todo una mujer independiente, luchadora y resiliente ante las etapas que hasta ahora he pasado en mi vida.

Mis hermanos mayores Dayana y Roger, son más de 100 años que hemos esperado para lograr cambiar la historia, ustedes fueron y serán mis primeros amigos y compañeros de vida. Gracias por sus palabras de aliento, su paciencia y por creer en mí incluso cuando yo dudaba. Sin dudar han compartido conmigo sus experiencias y conocimiento para convertirme en una persona con valores y profesional comprometida.

No tengo palabras para expresar toda la gratitud que tengo hacia mi hermosa familia, gracias a cada uno de ustedes por estar siempre a mi lado. Esta tesis es una muestra de lo que juntos hemos logrado. Les dedico este esfuerzo con todo mi amor y gratitud. Esta meta es el inicio de muchos cambios, los amo mucho.

KALU.

ÍNDICE

RESUMEN	5
ABSTRACT	6
CAPÍTULO I	7
PROBLEMA	7
1.2 Planteamiento del Problema	9
1.3 Preguntas de Investigación	9
1.4 Objetivos de la Investigación.....	10
1.4.1 Objetivo general	10
1.4.2 Objetivos específicos.....	10
1.5 Justificación.....	11
CAPÍTULO II.....	13
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	13
2.1 Antecedentes de investigación.....	13
2.2 Marco teórico.....	15
2.2.1 Chicha.....	15
2.2.2 Maíz germinado (jora).....	16
2.2.3 Bebidas fermentadas no lácteas.....	17
2.2.4 Información ancestral e importancia de la chicha de jora	18
2.2.4.1 Microbiología de la chicha de jora	19
2.2.5 Probióticos.....	20
2.2.6 Metagenómica	22
2.2.7 Árbol filogenético de microorganismos	25
2.3 Marco legal	25
CAPÍTULO III	28
METODOLOGÍA.....	28
3.1 Descripción del área de estudio	28
3.2 Enfoque y tipo de investigación	28
3.2.1 Enfoque.....	28

3.2.2 Tipo de investigación.....	28
3.3 Definición y operacionalización de variables.....	29
3.3.1 Definición de las variables	29
3.3.2 Operacionalización de variables	29
3.4 Procedimientos	31
3.4.1 Elaboración de la chicha de jora.....	31
3.4.2 Análisis metagenómico.....	34
3.4.3 Análisis filogenético de los microorganismos probióticos.....	34
3.4.4 Análisis fisicoquímico de la chicha de jora	34
3.4.4.1 Diseño experimental	35
CAPÍTULO IV	37
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
4.1. Características del color de la chicha de jora	37
4.2. Parámetros físicos y químicos de las chichas de jora tostada y sin tostar	37
4.2.1 Grados Brix.....	37
4.2.2 pH	38
4.3.3 Grado alcohólico.....	40
4.3 Identificación de los microorganismos presentes en la chicha de jora por metagenómica.....	42
4.3.1 Mohos y levaduras.....	42
4.3.2 Bacterias	49
4.4 Determinación de los árboles filogenéticos de los microorganismos probióticos en la chicha de jora.....	55
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	66
5.1 Conclusiones.....	66
5.2 Recomendaciones	67
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68
ANEXOS	85

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Operacionalización de las variables estudiadas.....	30
Tabla 2. Taxonomía de los microorganismos del reino fungi que superan el 0,5% de lectura en el análisis metagenómico	43
Tabla 3. Taxonomía de las bacterias presentes en las chichas de jora que superan el 0,3 % de lectura en el análisis metagenómico	50
Tabla 4. Bacterias en común de los dos tratamientos de la chicha de jora.....	52
Tabla 5. Resultados del diseño experimental 2x3	85
Tabla 6. Interacción de los tratamientos en los °Brix.....	85
Tabla 7. Interacción entre los tratamientos en el pH	85
Tabla 8. Interacción de los tratamientos en los grados de alcohol	85
Tabla 9. Mohos y levaduras identificados en las chichas de jora.....	86
Tabla 10. Microorganismos identificados en los dos tratamientos de chicha de jora....	88
Tabla 11. Levaduras con capacidad probiótica presentes en las chichas de jora	89
Tabla 12. Enzimas presentes en la chicha de jora	89
Tabla 13. Levaduras secundarias presentes en la chicha de jora.....	89
Tabla 14. Bacterias presentes en la chicha de jora	90
Tabla 15. Bacterias con capacidad probiótica presentes en la chicha de jora	100
Tabla 16. Análisis fisicoquímicos (°Brix) de la chicha de jora	100
Tabla 17. Análisis fisicoquímicos (pH) de la chicha de jora.....	101
Tabla 18. Análisis fisicoquímicos (grado alcohólico) de la chicha de jora	101

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Diagrama de flujo general de un Metagenoma. Resumen esquemático de las etapas implicadas en un estudio de metagenómica.	24
Figura 2. Diagrama de flujo de la chicha de jora	33
Figura 3. Grados Brix de las chichas de jora.....	38
Figura 4. pH de las chichas de jora.....	40
Figura 5. Grado alcohólico de las chichas de jora.....	41
Figura 6. Microorganismos comunes entre los dos tratamientos	45
Figura 7. Levaduras probióticas presentes en los dos tratamientos de la chicha de jora	45
Figura 8. Microorganismos productores de enzimas presentes en las chichas de jora..	47
Figura 9. Levaduras no convencionales positivas identificadas en las chichas de jora	48
Figura 10. Taxonomía de las bacterias identificadas en las chichas de jora	51
Figura 11. Bacterias probióticas presentes en las chichas de jora	54
Figura 12. Árbol filogenético de <i>Candida intermedia</i> basado en secuencias de ITS 86F	55
Figura 13. Árbol filogenético de <i>Candida intermedia</i> basado en secuencia de ITS 4...	56
Figura 14. Árbol filogenético de <i>Meyerozyma guilliermondii</i> basado en secuencias de ITS 86F	57
Figura 15. Árbol filogenético de <i>Meyerozyma guilliermondii</i> basado en secuencias de ITS 4	57
Figura 16. Árbol filogenético de <i>Wickerhamomyces anomalus</i> basado en secuencias de ITS 86F	58
Figura 17. Árbol filogenético de <i>Wickerhamomyces anomalus</i> basado en secuencias de ITS 4	59
Figura 18. Árbol filogenético de <i>Torulaspora delbrueckii</i> basado en secuencias de ITS 86F	60
Figura 19. Árbol filogenético de <i>Torulaspora delbrueckii</i> basado en secuencias de ITS 4	60
Figura 20. Árbol filogenético de <i>Leuconostoc lactis</i> basado en secuencias de ITS 341F	61
Figura 21. Árbol filogenético de <i>Leuconostoc lactis</i> basado en secuencias de ITS 805R	62

Figura 22. Árbol filogenético de <i>Lactococcus</i> sp basado en secuencias de ITS 341F ..	63
Figura 23. Árbol filogenético de <i>Lactococcus</i> sp basado en secuencias de ITS 805R .	63
Figura 24. Árbol filogenético de <i>Bacillus cereus</i> basado en secuencias de ITS 341F ..	64
Figura 25. Árbol filogenético de <i>Bacillus cereus</i> basado en secuencias de ITS 805R..	65
Figura 26. Informe del análisis de metagenómica para mohos y levaduras	102
Figura 27. Informe del análisis de metagenómica para bacterias.....	104
Figura 28. Ubicación geográfica de la UPEC	107
Figura 29. Materia prima de la chicha de jora (maíz amarillo)	107
Figura 30. Maíz germinado (jora)	108
Figura 31. Jora secada	108
Figura 32. Jora tostada.....	109
Figura 33. Joras molidas.....	109
Figura 34. Cocción de hierbas aromáticas.....	110
Figura 35. Cocción de la chicha de jora tostada y sin tostar	110
Figura 36. Fermentación de la chicha de jora.....	1102

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. ANOVA.....	85
Anexo 2. Interacción de los posibles cruces entre factores y niveles en los grados Brix	85
Anexo 3. Interacción de los posibles cruces entre factores y niveles en el pH.....	85
Anexo 4. Interacción de los posibles cruces entre factores y niveles en los grados de alcohol	85
Anexo 5. Mohos y levaduras identificados en las chichas de jora	86
Anexo 6: Microorganismos que comparten los dos tratamientos	88
Anexo 7. Levaduras con capacidad probiótica presentes en las chichas de jora.....	89
Anexo 8. Enzimas presentes en la chicha de jora.....	89
Anexo 9. Levaduras secundarias presentes en la chicha de jora	89
Anexo 10. Bacterias presentes en la chicha de jora	90
Anexo 11. Bacterias con capacidad probiótica presentes en la chicha de jora	100
Anexo 12. Análisis fisicoquímicos (°Brix) de la chicha de jora	100
Anexo 13. Análisis fisicoquímicos (pH) de la chicha de jora	101
Anexo 14. Análisis fisicoquímicos (grado alcohólico) de la chicha de jora	101
Anexo 15. Informe de metagenómica obtenido por Biosequence.....	102
Anexo 16. Informe de metagenómica obtenido por Biosequence.....	104
Anexo 17. Ubicación geográfica de la UPEC	107
Anexo 18. Materia prima de la chicha de jora (maíz amarillo).....	107
Anexo 19. Maíz germinado (jora)	108
Anexo 20. Jora seca.....	108
Anexo 21. Jora tostada	109
Anexo 22. Joras molidas	109
Anexo 23. Cocción de hierbas aromáticas	110
Anexo 24. Cocción de la chicha de jora tostada y sin tostar	110
Anexo 25. Fermentación de la chicha de jora	110

RESUMEN

La chicha de jora es una bebida ancestral fermentada, de la región andina, que ha sido estudiada por su relevancia cultural y nutritiva. El objetivo de la investigación fue analizar la carga microbiana que se desarrolla durante su fermentación natural y evaluar su efecto en las características físicas, químicas y microbiológicas, para conocer la opción más inocua. La elaboración inició con el remojo, escurrido, germinación y secado al sol del maíz, seguido de su molienda. Se establecieron dos tratamientos; en el tratamiento T1 se utilizó de jora sin tostar triturada, en el tratamiento T2 se tostó la jora a 65 °C durante 30 minutos antes de triturarla. El agua aromática se preparó con clavo de olor, congona, cedrón, hierba luisa y panela. La jora triturada se coció durante dos horas con el agua de especias, se dejó fermentar en un ambiente fresco y oscuro. Se aplicaron BPM en todas las etapas de preparación, garantizando el cumplimiento de estándares de calidad e inocuidad establecidos por la normativa vigente. Se recolectaron muestras de los dos tratamientos en los días dos, cuatro y seis de fermentación para realizar la caracterización física y química. Los resultados mostraron que el tratamiento T2, presentó un contenido alcohólico del 10,6 %, pH 2.4 y °Brix 2.4. siendo el mejor. El análisis estadístico indicó diferencias significativas entre ambos tratamientos. Al sexto día se realizó el análisis metagenómico, el cual reveló un perfil microbiano diverso, se destaca en T2 la presencia de levaduras probióticas, como *Candida intermedia*, *Wickerhamomyces anomalus*, y bacterias probióticas del tipo ácido lácticas, ácido acéticas y bifidobacterias. Resaltando el potencial de la chicha de jora como una bebida probiótica nutritiva. Se debe considerar el posible desarrollo de microorganismos patógenos durante la fermentación, y se sugiere la inoculación de cultivos iniciadores para mitigar este riesgo.

Palabras clave: Chicha de jora, *Torulaspora delbrueckii*, *Lactococcus* sp., *Lactobacillus salivarius*, *Streptococcus orisratti*

ABSTRACT

“Chicha de jora” is an ancient fermented corn drink that is consumed all over the Andean region. The objective of this research was to analyse the microbiome developed during its fermentation process and to test its effect over physical, chemical and microbiological characteristics, thus, to know the most harmless. The elaboration process began with the soaking, draining, germination and drying under the sun, followed by its grinding. Two treatments were established; in the treatment T1 jora without roasting was used, on the other hand, treatment T2 jora was roasted at 65 °C during 30 minutes before grinding. The herbal-infused water was prepared with golden clove, congona, lemon verbena, lemongrass and cane sugar. The grinded jora was cooked for two hours with the infused water, then this was fermented in a cool and dark environment. Good Manufacturing Practice (GMP) was used all over the preparation stage, assuring the quality and harmless standards establish by the current normative. Samples were collected from both the treatments at two, four and six days of fermentation for physical and chemical characterization. Results showed that treatment T2 had 10.6% alcohol, pH 2.4, and °Brix 2.4, being the best treatment. There was statistical significance between treatments. At day six the metagenomic analysis was performed, which resulted in a diverse microbiological profile, it is emphasised in T2 the presence of probiotic yeasts, like *Candida intermedia*, *Wickerhamomyces anomalus*, and probiotic bacteria from the lactic acid, acetic acid and bifidobacteria type. Standing out the potential of “chicha de jora” like a nutritive probiotic beverage. It must be considered the possible development of pathogen microorganisms throughout the fermentation process, and it is suggested the culture inoculation to reduce this risk.

Keywords: Chicha de jora, *Torulaspora delbrueckii*, *Lactococcus* sp., *Lactobacillus salivarius*, *Streptococcus orisratti*.

CAPÍTULO I

PROBLEMA

1.1 Planteamiento del Problema

Las bebidas fermentadas tienen aceptación global en los mercados. Su consumo se remonta a las primeras civilizaciones y continúa siendo popular en la actualidad, es un producto propio de algunas culturas. En países latinoamericanos como Ecuador, Perú, Chile y Argentina, existen diversas variedades de bebidas fermentadas (Valdez, 2019). Entre las bebidas ancestrales de cada país se encuentran el Biche o Viche del Pacífico, originario de Cauca, Chocó, Valle y Nariño; el Chirrinchi, un destilado de La Guajira; y el Vino de Corozo, característico de Cartagena de Indias, Gran Bolívar, entre otros (Rueda, 2021).

La chicha de jora es una bebida ancestral ecuatoriana elaborada a partir de maíz seco, reconocida por sus propiedades probióticas que mejoran la salud gastrointestinal (Black *et al.*, 2020). La producción artesanal de esta bebida enfrenta serios problemas que amenazan su viabilidad. En primer lugar, existe la necesidad de modificar el proceso de elaboración, lo que implica costos significativos relacionados con la implementación de maquinaria a lo largo de toda la cadena productiva. Además, la calidad y la seguridad del producto se ven comprometidas debido a la falta de estandarización en los procedimientos de fabricación y el control microbiológico, lo que puede resultar en productos inconsistentes y potencialmente inseguros para el consumidor (Dahiya y Nigam, 2022).

El proceso de elaboración de la chicha de jora en el cantón Bolívar, provincia del Carchi, Ecuador, enfrenta un problema significativo relacionado con la seguridad alimentaria. Aunque la chicha de jora es aceptada y consumida culturalmente en la región, su comercialización fuera del ámbito local está restringida debido a preocupaciones sobre la contaminación microbiológica (Velásquez *et al.*, 2021). La falta de investigaciones detalladas en este aspecto impide garantizar la inocuidad y seguridad alimentaria de la chicha de jora, limitando su potencial de comercialización fuera del ámbito local.

En los alimentos fermentados se encuentran comúnmente microorganismos como los probióticos que pueden mejorar la salud digestiva, fortalecer el sistema inmunológico

y ayudar en la prevención y tratamiento de ciertas enfermedades gastrointestinales, como la diarrea infecciosa y el síndrome del intestino irritable (Hill *et al.*, 2014).

A pesar de los beneficios reconocidos de los para la salud, su uso y producción enfrentan desafíos significativos, especialmente en la elaboración de la chicha de jora. Un problema central es la falta de identificación y estandarización de las cepas probióticas que se producen, lo que resulta en una variabilidad en los parámetros de calidad del producto. Además, la viabilidad de los probióticos puede verse afectada por factores como la temperatura, la humedad y el tiempo de almacenamiento. Estos factores comprometen la capacidad de garantizar una concentración adecuada de microorganismos vivos en el producto final, dificultando así la consistencia y eficacia de los beneficios probióticos al momento del consumo (Dahiya y Nigam, 2022).

Las técnicas microbiológicas tradicionales para la identificación y análisis de microorganismos suelen requerir un tiempo considerable, así como materiales y recursos económicos significativos. Estas técnicas, como el cultivo en medios selectivos y la identificación morfológica, pueden ser laboriosas y costosas, además de estar limitadas a los microorganismos que crecen en condiciones de laboratorio específicas. En contraste, la metagenómica ha emergido como una técnica avanzada que supera muchas de estas limitaciones. La metagenómica permite el análisis de comunidades microbianas completas directamente a partir de muestras ambientales sin la necesidad de cultivo previo, lo que facilita la identificación de microorganismos no cultivables y proporciona una visión más integral de la biodiversidad microbiana (Hugenholtz y Tyson, 2008). Esta técnica utiliza secuenciación de ADN para examinar el material genético de todos los microorganismos presentes en una muestra, ofreciendo una herramienta poderosa para la investigación en microbiología y la mejora de la calidad en diversos productos alimenticios (Riesenfeld *et al.*, 2004).

A pesar del creciente interés global en el consumo y comercialización de alimentos probióticos como la kombucha y el kéfir de agua, la chicha de jora aún no se comercializa fuera de su ámbito local. Este desafío se debe, en parte, a posibles deficiencias en los parámetros de producción que podrían afectar su seguridad y calidad. En este contexto, surge una necesidad crítica de identificar los microorganismos presentes durante la fermentación de la chicha de jora y clasificarlos adecuadamente, para lo cual, la metagenómica puede ser utilizada ya que esta técnica

permite identificar y clasificar microorganismos en comunidades microbianas complejas, (Hugenholtz y Tyson 2008). proporcionando una herramienta valiosa para la caracterización de la chicha de jora.

El análisis metagenómico de la chicha de jora permitirá evaluar la presencia de microorganismos probióticos, como *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, y descartar la presencia de patógenos, asegurando el cumplimiento de los estándares sanitarios para su comercialización. La identificación de los microorganismos involucrados en la fermentación, mediante la secuenciación de nueva generación, proporcionará una comprensión detallada de las características funcionales de la comunidad microbiana y su potencial para producir metabolitos bioactivos con beneficios para la salud, como la mejora de la salud intestinal. Esta información es esencial para optimizar los procesos de producción, garantizar la inocuidad del producto final, posicionar a la chicha de jora como un alimento funcional de alto valor agregado en el mercado global y balancear la innovación tecnológica con el respeto a las prácticas ancestrales de elaboración.

1.2 Planteamiento del Problema

La producción artesanal de la chicha de jora, aunque arraigada en tradiciones ancestrales, presenta desafíos en cuanto a la estandarización de los procesos y la garantía de la inocuidad del producto. La aplicación de herramientas moleculares como la metagenómica permitirá identificar los microorganismos responsables de la fermentación y la presencia de patógenos para establecer criterios de calidad e inocuidad.

1.3 Preguntas de Investigación

- ¿El uso de la jora tostada y sin tostar afecta a la carga microbiológica presente chicha de jora?
- ¿Con qué técnica se pueden identificar los microorganismos presentes en las chichas de jora tostada y sin tostar?
- ¿Cuáles son los microorganismos que se encuentran en las chichas de jora tostada y sin tostar?
- ¿Existen bases de datos que permitan clasificar a los microorganismos que fueron identificados mediante el análisis metagenómico?

- ¿En qué chicha existe mayor cantidad de microorganismos probióticos y patógenos en la chicha elaborada con jora tostada o en la elaborada con jora sin tostar?
- ¿Influyen los parámetros físicos y químicos de las chichas de jora tostada y sin tostar en la presencia de microorganismos probióticos y patógenos?

1.4 Objetivos de la Investigación

1.4.1 Objetivo general

Analizar la carga microbiana presente en las chichas de jora tostada y sin tostar, así como los parámetros físicos y químicos, para la selección de la opción más inocua.

1.4.2 Objetivos específicos

- Identificar los parámetros físicos para la elaboración de las chichas con jora tostada y sin tostar.
- Determinar los parámetros físicos y químicos de las chichas de jora tostada y sin tostar.
- Identificar los microorganismos presentes en las chichas de jora tostada y sin tostar mediante la técnica de metagenómica.
- Construir el árbol filogenético de los microorganismos probióticos y patógenos presentes en las chichas de jora tostada y sin tostar.

1.5 Justificación

La chicha de jora es uno de los productos ancestrales y tradicionales más destacados en las bebidas vegetales dentro de los países andinos, debido a los nutrientes positivos que mantiene y la capacidad probiótica que posee tras su fermentación con levaduras, se considera una bebida rica en microorganismos favorables. Hoy en día aún se la consume dentro de la región andina en comunidades que celebran a la Pachamama (Vargas *et al.*, 2020; Chávez y Domínguez, 2023). En la presente investigación se identificaron los microorganismos con capacidad probiótica que mencionan los autores.

La bebida fermentada natural ha traspasado generaciones incaicas que fueron reprimidas, transformadas, cooptadas y reinventadas desde la colonización. La derivación cervecera forma parte de un vínculo con las tradiciones andinas que demuestran evolución en los tejidos sociales de las comunidades a través de la reciprocidad y que persisten como un emblema de la identidad indígena. Tradicionalmente la chicha se sirve en un qero (recipiente ceremonial inca para beber bebidas alcohólicas, pueden ser de madera, cerámica, plata u oro y se usaban en fiestas de los Incas en los Andes) y se la suele acompañar con cuy asado (Mugits, 2018; Drake, 2016). Se identifica la importancia de del producto en las culturas andinas ancestrales, el rescate de la tradición y empoderamiento de nuestra cultura.

La elaboración de bebidas fermentadas vegetales ha ido en aumento silenciosamente en los últimos años, en el 2020 la pandemia jugó un papel importante en este avance, ya que los consumidores buscaban productos naturales que ayuden al sistema inmunológico y presenten propiedades benéficas para la salud. Las cepas microbianas probióticas (*Lactobacillus* y *Bifidobacterias*) favorecen positivamente al paciente en cuanto a síntomas gastrointestinales como respiratorios (Cuenca, 2022). Los alimentos funcionales ganan protagonismo en la nutrición básica, puesto que incorporaron diferentes compuestos bioactivos de plantas, ácidos grasos poliinsaturados, probióticos, prebióticos, minerales y vitaminas (Marajofsky, 2022; Valero *et al.*, 2020). En los estudios se identifica la importancia del producto como alimento funcional.

Los alimentos funcionales que contienen probióticos ofrecen múltiples beneficios para la salud, su consumo incrementa el microbiota intestinal y la equilibran fortaleciendo de esta manera el sistema inmunológico y prevenir el crecimiento de patógenos. Este equilibrio

contribuye a mejorar la digestión, reducir la inflamación intestinal y aliviar trastornos como el síndrome del intestino irritable (Gomes *et al.*, 2021).

En Ecuador y Perú la chicha de jora era una bebida que se consideraba de élite y se utilizaba para ceremonias religiosas y culturales en días festivos. La innovación de nuevos productos con métodos antiguos de conservación como la fermentación, ha permitido el desarrollo de productos cuyo consumo mejora el estado de ánimo, el comportamiento e influye en la producción del cortisol minimizando los síntomas físicos del estrés. El consumo de chicha es ancestral, antes de la colonización española, y sigue siendo una costumbre de antaño, permite que se rescaten los sabores y aromas que son parte principal de la bebida (Guerra *et al.*, 2022; Lewin, 2023).

El estudio de alimentos que trascienden las culturas forma parte del compromiso académico que debemos hacer las universidades, ya que permitirá generar información y valorizar las preparaciones tradicionales, desde un enfoque técnico, ofreciendo un consumo seguro por el desarrollo de la investigación profunda como la carga microbiana, así se convertirá a esta bebida ancestral en un producto estable en su calidad e inocuidad para el consumidor asegurando y beneficiando su salud.

La implementación de herramientas novedosas para el desarrollo e identificación precisa de microorganismos presentes en la chicha se centra en métodos efectivos y usuales dentro de la ciencia como siembras en cultivos selectivos o reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que permiten la determinación y caracterización de la riqueza microbiana. En la presente investigación se utilizó la metagenómica por amplicón, que es una metodología completa en cuanto a la ampliación considerable de la carga microbiológica presente en las bebidas fermentadas (Barbosa *et al.*, 2018; Leech *et al.*, 2020). De esta manera se obtuvo la información taxonómica de los microorganismos presentes en la chicha de jora.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

La fundamentación teórica compila los antecedentes de la investigación, marco teórico y marco legal. Para lo cual, se recopiló información en Google escolar, revistas científicas (Science direct, Dialnet, Scopus), bases gubernamentales y no gubernamentales (National Center for Biotechnology Information NCBI y Basic Local Alignment Search Tool BLAST). Esta revisión bibliográfica general aborda la temática de las bebidas ancestrales, metagenómica y seguridad alimentaria, las investigaciones realizadas en este campo, los conceptos relevantes por parte de varios autores y la legislación nacional vinculada. Las investigaciones seleccionadas presentan información relevante de metodología, los datos serán considerados en la discusión de los resultados.

2.1 Antecedentes de investigación

Barbosa *et al.*, (2018) definen a la chicha como una bebida clara, amarilla y espumosa que se prepara a partir de maíz, Bassi *et al.*, (2020) mencionan que la chicha de jora es una bebida fermentada ancestral con aspectos claros, amarillentos, efervescentes de bajo contenido calórico y que es consumida en los países latinoamericanos. Las investigaciones se relacionan con este trabajo, en virtud, de que permiten identificar las características de apariencia del producto que se va a elaborar.

Bassi *et al.* (2020), identificaron la composición microbiana de la chicha que se elabora en diferentes ubicaciones geográficas. Recolectaron 27 muestras y determinaron que la composición microbiana depende directamente de los ingredientes y procesos utilizados. Identificaron la presencia de bacterias ácido-lácticas (BAL) como *Lactobacillus*, *Weissella*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* y *Streptococcus*, y bacterias ácido-acéticas (BAA), especialmente *Acetobacter*. En la recolección de muestras del producto, se consideraron 14 locales de 7 provincias del Perú que mantenían condiciones de fermentación controladas, con procesos estandarizados. A través de análisis bioinformáticos, lograron secuenciar los géneros de los microorganismos basándose en su taxonomía. La chicha a base de maíz se considera como una cerveza milenaria que contiene una gran cantidad de microorganismos beneficiosos para el sistema gastrointestinal. Entre las especies de las familias más dominantes encontraron *Lactobacillaceae*, *Acetobacteraceae* y *Leuconostocaceae*. Concluyeron que la investigación puede aportar y mejorar el

conocimiento desde un punto de vista microbiológico para esta bebida ancestral, ya que las bacterias presentes son promotoras para mejorar la salud y aportar a la calidad higiénica del producto.

Rodríguez y García (2017) aislaron e identificaron bacterias ácido – lácticas (BAL), y evaluaron la capacidad probiótica in vitro e in vivo con pruebas de antagonismo con patógenos que fueron aisladas de chicha de molle elaboradas artesanalmente de las provincias de Huanta y Huamanga. Trabajaron con 55 cepas BAL y dentro de las colonias más representativas están *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus maltaromicus* y *Leuconostoc mesenteroides* en base a la fermentación de azúcares. Demostraron que 14 de las 55 cepas produjeron sustancias inhibidoras de amplio espectro, realizaron ensayos a diferentes pH, obteniendo como resultado que 25 de las cepas BAL tienen capacidad de tolerancia gastrointestinal, siendo las más representativas las cepas BL-1-27 (*Lactobacillus plantarum*), y BL-26-53 (*Lactobacillus maltaromicus*), finalmente, comprobaron en ratas y determinaron el aumento considerable de peso por el consumo de estos probióticos y a su vez la mejora en los problemas gastrointestinales.

En Latinoamérica las bebidas vegetales fermentadas son muy consideradas en la cocina ancestral y actual, por sus beneficios. Rebaza *et al.* (2023), consideraron la tradición de las comunidades amazónicas del Perú, y elaboraron dos bebidas típicas: “Masato de yuca” y “Chicha de siete semillas”, aislaron las bacterias ácido-lácticas y determinaron qué tipo de microorganismos estaban presentes, enfatizándose en las bacterias probióticas. Identificaron cepas de *Lactoplantibacillus plantarum*. La elaboración artesanal de estas bebidas fermentadas ha llegado a formar parte de la economía sustentable de la mayoría de las familias. Esta investigación destaca la importancia de las bebidas ancestrales a lo largo del tiempo y su contribución como bebida funcional al contener el *Lactoplantibacillus plantarum* por los beneficios para la salud.

Ucak *et al.*, (2022) utilizaron la técnica metagenómica para identificar bacterias de una bebida fermentada a base de cereales (Boza). Utilizaron dos métodos para la extracción del ADN de la muestra, en el primero: aislaron el material genético directamente con el uso de un kit comercial, y, en el segundo usaron un método clásico para la extracción manual con fenol/ cloroformo/ alcohol isopropílico y una muestra de la bebida pre-enriquecida con buffer de agua peptona. El primer método arrojó datos donde las bacterias *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* y *Streptococcus*, fueron las que dominaron.

Mientras que en el segundo método las bacterias que dominaron fueron *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Escherichia/ Shigella*, *Bacillus* y *Lactobacillus*. Se recolectaron 23 muestras de la bebida de diferentes partes de Turquía y se demostró que el género más dominante en este tipo de bebidas es el *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Weisella*, entre otros. En otra instancia, encontraron que el pre-enriquecimiento de la muestra permite que se desarrollen microorganismos no deseados como *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Escherichia*. Finalmente, concluyen que el uso de la metagenómica y la secuenciación de próxima generación es un método eficiente para encontrar el microbiota presente en productos alimenticios. Se consideró este estudio ya que se identificó una relación por el uso de la metagenómica en la determinación de microorganismos presentes en bebidas fermentadas, puesto que la chicha de jora posee similares características en proceso.

Las investigaciones enfocadas en los contenidos nutricionales de la chicha de jora ha ido tomando auge en los últimos años, Vargas *et al.* (2020) en Arequipa al sur de Perú se enfocaron en la relevancia cultural étnica de esta bebida tradicional con una comprensión de las profundas raíces históricas y ecológicas. Se recolectaron muestras de cinco productores artesanales de *Chicha de Guiñapo* (maíz morado germinado) de diferentes zonas geográficas de la región. El proceso de producción étnico más tradicional se desarrolló en la zona Z2, el producto presentó una acidez de 0,23 a 0,36 g de ácido láctico por cada 100 mL, etanol de 6,7 %, y 9,57 a 11,70 de grados Brix. El uso de la variedad de maíz morado afecta al tiempo de fermentación entre 10 y 12 días, mientras que el maíz blanco tarda 6 días, por tanto, se verá afectado el color, sabor y la textura del producto final, entre las características principales. Esta información es relevante ya que permite establecer parámetros fisicoquímicos de la chicha de guiñapo y su efecto en la salud que se consideraron en la presente investigación.

2.2 Marco teórico

2.2.1 Chicha

Según la Real Academia Española, (2024) dice que la palabra chicha es “Bebida alcohólica que resulta de la fermentación del maíz en agua azucarada, y que se usa en algunos países de América”. Mugits, (2018) indica que la chicha se refiere a una variedad de bebidas elaboradas a base de diferentes granos, frutas y tubérculos. Por otro lado, la palabra "jora" procede del quechua "shura" o "sora", que significa maíz germinado, entonces la chicha de jora simplemente significa “chicha de maíz”. Es un

nombre genérico referido a una variedad de bebidas fermentadas. Segovia *et al.*, (2022) indican que la chicha de jora es una bebida tradicional peruana similar a la cerveza, producida por la fermentación del maíz germinado y elaborada con tecnología indígena.

2.2.2 Maíz germinado (jora)

Para trabajar el tema propuesto es necesario identificar el proceso de elaboración de la jora. De acuerdo con Moreira *et al.*, (2020) y Jaramillo, (2022) la jora se elabora a partir de granos de maíz suave que se remojan con agua para que se humedezcan, luego se los hace germinar en un ambiente húmedo, se seca al sol y se muele; este proceso también se conoce como malteado.

García (2023) indica que en la germinación de los granos de maíz se producen múltiples procesos fisiológicos que alteran la composición química, como el aumento de los sólidos solubles de 8 a 11 grados Brix. Este incremento es el resultado de la hidrólisis enzimática del almidón, ya que, se activa la capa del endospermo por las amilasas presentes, donde permite la descomposición en azúcares simples para mayor absorción. La acidez es otro parámetro que aumenta de 0,30 a 0,57 por la liberación de ácidos grasos y minerales que se producen en la etapa de germinación a causa del desdoblamiento de los azúcares compuestos como el almidón y los carbohidratos, además el embrión comienza a producir ácido luego de iniciada la etapa de la hidratación en el malteado (Moreira *et al.*, 2020; Espinoza, 2019). Esta información permite entender la importancia de tiempos y temperaturas en el proceso de obtención de la jora como paso inicial en la preparación de esta bebida ancestral, y permite generar parámetros de control en la estandarización del proceso.

El tostado de la jora es un paso fundamental en la elaboración de la chicha. Este proceso implica tostar los granos de maíz previamente germinados y secados, para darle un color dorado y un aroma a notas ahumadas y caramelizadas característico al producto final, además, influye en la fermentación al modificar los azúcares disponibles para las levaduras. La intensidad del tostado puede variar según la receta y la tradición local, lo que permite una gran diversidad de sabores y estilos en la chicha de jora, el tostado adecuado de la jora es crucial para garantizar una buena fermentación y, por lo tanto, la calidad y estabilidad del producto final (Grijalva *et al.*, 2020).

2.2.3 Bebidas fermentadas no lácteas

La fermentación es un proceso ancestral que conserva a los alimentos, esta operación permite transformar los alimentos y dotarlos de una serie de atributos sensoriales agradables al paladar. Esta técnica sigue utilizándose en muchos lugares del mundo, especialmente para la producción de bebidas vegetales a base de cereales, jugos de frutas, verduras y una variedad de sustratos (Marsh *et al*, 2014).

La fermentación de bebidas y alimentos es un proceso bioquímico en el que microorganismos, como levaduras y bacterias, convierten los azúcares presentes en ingredientes base, como alcohol y compuestos orgánicos. Este proceso no solo transforma la composición química de las materias primas, sino que también contribuye al desarrollo de sabores, aromas y texturas características del producto terminado, mejora la preservación de las bebidas, ya que produce compuestos que inhiben el crecimiento de patógenos y extienden la vida útil del producto. Ejemplos de bebidas fermentadas incluyen la cerveza, el vino, el sake y la chicha, cada una con métodos de producción específicos y características únicas que reflejan la cultura y la tradición del lugar donde se elaboran (Tang *et al.*, 2023).

De acuerdo con Ross, (2022); da Silva Vale *et al.*, (2023) el consumo constante de alimentos funcionales como las bebidas fermentadas puede beneficiar la salud intestinal, reducir la inflamación y mejorar el funcionamiento. Recientemente, estos alimentos han experimentado un aumento en la demanda del mercado. Entre ellos se encuentran productos fermentados como la kombucha, el kéfir de agua, la chicha de arroz y la chicha de jora, que aportan prebióticos y probióticos a las dietas diarias, calman la sed y ayudan a mantener la hidratación. El consumo de estos productos potencia y promueve un intestino saludable combinado con una dieta equilibrada.

La industria de las bebidas fermentadas naturales ha logrado mantenerse en tendencia con productos innovadores que satisfacen una serie de necesidades surgidas por la pandemia nivel mundial, como el refuerzo del sistema inmunológico y la mejora de la digestión. Los consumidores exigen cada vez más a las industrias la producción de alimentos naturales, saludables y de mejor calidad, que ofrezcan beneficios para la salud y mayores propiedades nutricionales. Las bebidas fermentadas vegetales, que contienen antioxidantes, minerales, vitaminas y fibras beneficiosas para la salud humana, han

demostrado ser un éxito en ventas a nivel mundial, entre las más destacadas se encuentra la chicha de jora, que es una alternativa saludable a las típicas bebidas artificiales carbonatadas (Irkin, 2019).

Xiong *et al.*, (2022), mencionan que los cereales son cultivos importantes y básicos que se consideran fuentes primarias de energía y nutrición, la producción de bebidas a base de estas pertenece a las bebidas funcionales que mejoran la salud diaria de los consumidores. Cuando los granos que son tostados hay un incremento de la capacidad de ser metabolizados por los microorganismos generando beneficios positivos.

2.2.4 Información ancestral e importancia de la chicha de jora

La chicha de jora se produce por la fermentación natural en aproximadamente 5 días en el cual adquiere un contenido de alcohol de 0,8 % hasta 13,2 % (da Silva Vale *et al.*, 2023).

La tradición, cultura y lucha de productos ancestrales se representa en los festivales y ferias que tienden a resaltar la historia que hay de tras de cada alimento. Las raíces de los territorios hoy en día se marcan por la práctica y la magia de producir chicha. La importancia de comprender estos eventos radica en las circunstancias culinarias, ya que permiten observar diversas maneras de fabricar y comercializar productos hereditarios donde se utilizan técnicas actuales que también garantizan la seguridad alimentaria (Días, 2024).

La chicha de jora es una bebida ancestral que ha estado presente desde antes de la colonización española y ha perdurado a través de generaciones, desde el mandato de Túpac Yupanqui hasta la actualidad. Es considerada una bebida trascendental a nivel mundial, pero presenta ligeras variaciones en cada país donde se produce. Su origen se remonta a los aguaceros que azotaban las aldeas y causaban grandes pérdidas, comprometiendo los silos de maíz almacenados y que al mezclarse con el agua, estos granos comenzaron a fermentar, así se descubrió la malta de maíz (peru.travel, 2020).

Cuenta la historia que un indígena hambriento encontró este bebedizo entre los desperdicios y lo bebió. Inmediatamente, calmó su sed y se embriagó. Fue entonces cuando este maravilloso producto fue adoptado por la nobleza Inca. Con el tiempo, perfeccionaron la receta y comenzaron a servirla en todos los rituales y ceremonias en

honor a los Huacas (lugares sagrados) y Apus (dioses), como ofrenda a la tierra durante las celebraciones de la Pachamama (peru.travel, 2020).

Hoy en día las costumbres cambiaron, pero la chicha de jora aún se la sigue sirviendo como acompañante de lujo. Especialmente en las zonas rurales de la Sierra donde se la presenta en jarrones ornamentales (pondos) (peru.travel, 2020).

La chicha de jora desempeñaba un papel importante en la cultura andina y, como el primer tipo de alcohol en las comunidades precolombinas, se la considera un acompañante para amigos y comunidades. Las fiestas del sol "Inti Raymi" en Cotacachi, Imbabura, conservan la famosa preparación de este tipo de chicha. Actualmente, se busca rescatar la esencia de esta bebida ancestral y fusionarla con técnicas modernas para recuperar un producto con profundas raíces culturales. Con la colaboración de expertos cerveceros, se han iniciado valiosos aportes para mejorar y modernizar estos procesos (Soleq, 2016; Jaramillo, 2022).

2.2.4.1 Microbiología de la chicha de jora

Entre los microorganismos que se involucran en este proceso están las levaduras (*Saccharomyces Torulaspora*, *Pichia Candida*), las bacterias ácido lácticas (*Lactiplantibacillus plantarum*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Weissella*) las bacterias ácido acéticas (*Acetobacter*) además, de otros géneros como *Bacillus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Staphylococcus* y *Micrococcus*, de los cuales algunos son considerados probióticos y también patógenos (da Silva Vale *et al.*, 2023).

Pueden estar presentes microorganismos patógenos, que incluyen bacterias, virus, hongos y parásitos, estos son responsables de causar enfermedades o intoxicaciones en humanos, animales y plantas, en la chicha se pueden presentar cuando no existen Buenas Prácticas de Manufactura en la elaboración. Los microorganismos más comunes en este tipo de bebidas por el tipo de materia prima utilizada en la elaboración son *Bacillus cereus* que son bacterias formadoras de esporas ubicuas que están en el medio ambiente (Yossa *et al.*, 2022).

Esta bacteria oportunista puede provocar dos tipos de toxiinfecciones alimentarias, generalmente de carácter benigno. El tipo emético se produce por la ingestión de toxinas termolábiles preformadas en los alimentos y se caracteriza por náuseas y vómitos entre

30 minutos y 6 horas después del consumo de alimentos contaminados. También pueden ocurrir dolores abdominales y/o diarrea. La duración de los síntomas en general es de menos de 24 horas. El tipo diarreico es causado por la ingestión de esporas en alimentos como verduras y carnes que producen toxinas en el tracto gastrointestinal, causando diarrea acuosa y dolor abdominal después de 6-15 horas de consumir el alimento implicado. Las náuseas pueden acompañar a la diarrea, pero el vómito ocurre en raras ocasiones. Los síntomas persisten durante 24 horas en la mayoría de los casos (FDA, 2009). Las prevenciones para destruir a esta bacteria es calentar a la bebida a más de 100 °C con choques térmicos de menos de 8 °C (Chaves *et al.*, 2020).

2.2.5 Probióticos

La Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA) señala que los probióticos son "microorganismos vivos que cuando se administran en cantidades adecuadas confieren beneficios para la salud del consumidor". Además, indica que los suplementos alimenticios no deben contener concentraciones que generen actividad terapéutica, a excepción de los probióticos (ARCSA, 2021).

Los probióticos son microorganismos viables, que se encuentran en los alimentos fermentados como parte de la nutrición humana. Se agregan a los alimentos para mejorar su valor nutricional, como los suplementos dietéticos y medicamentos. La industria alimentaria está tratando de desarrollar otras matrices alimentarias que sean adecuadas para este propósito, los probióticos se agregan convencionalmente a los productos lácteos, pero las nuevas formulaciones de bebidas probióticas basadas en jugos de frutas podría ser una solución, ya que pueden ser excelentes vehículos de este tipo de bacterias (Žuntar *et al.*, 2020).

Los probióticos son microorganismos vivos que al ser administrados de manera y cantidades adecuadas conceden beneficios para la salud del huésped al momento de su consumo. Las bacterias las ácido lácticas se encuentran entre los principales microorganismos, producen variedades de estructuras celulares y metabolitos como componentes de superficie celular, ácidos grasos de cadena corta (AGCC), péptidos bioactivos (Salminen *et al.*, 2022), sin embargo, deben cumplir ciertas características como mantener un crecimiento de pH inferior a 4,0; ejercer control sobre bacterias patógenas, sobrevivir y multiplicarse en el tracto gastrointestinal (Pacheco *et al.*, 2024)

no deben causar toxicidad ni enfermedad, deben resistir a los jugos gástricos, jugos pancreáticos básico a las sales biliares y a la enzima lisozima, en el transcurso de la digestión deben auto agregarse y generar una microbiota de soporte normal y utilizable (Vergara *et al.*, 2023).

Muchos de los alimentos fermentados se relacionan con la influencia en cuanto a las propiedades físicas y los posibles efectos sobre el consumo de los probióticos en especial los que forman parte de derivados lácteos y los alimentos de origen vegetal, donde mayormente se toman en cuenta las bacterias pertenecientes al

Dentro de los microorganismos probióticos más importantes están las BAL, BAA, levaduras y otros grupos como las bifidobacterias, que se encuentran comúnmente en alimentos fermentados y presentan diferentes mecanismos para inferir los efectos beneficiosos sobre la persona que los consume. Algunos de los atributos favorables de encontrar estos probióticos en las bebidas fermentadas es mejorar las propiedades sensoriales del producto final, aumentar la vida útil y mejorar la seguridad microbiana (Santander y Castro, 2024).

La importancia de consumir alimentos con probióticos se rige en que se necesita de una cantidad efectiva de bacterias viables para aprovechar toda la funcionalidad, caso contrario se estaría ingiriendo microorganismos muertos y dañados que determinan el final de la vida útil. Además, se considera que un probiótico, al ser consumido a través de un alimento, puede actuar como un nutriente que proporciona energía para el crecimiento, desarrollo y mantenimiento de una vida sana (Salminen *et al.*, 2022; Correa y Cuenca, 2022). Todos los productos que contienen probióticos mantienen diferentes características nutricionales y terapéuticas por la composición genética de la cepa, la cantidad que es utilizada en el producto, la cual es medida en unidades formadoras de colonias (UFC) puesto que son microorganismos, parámetro que se utiliza para determinar su vida útil, por ello, un alimento con estos microbios debe tener 10^6 UFC/g para alcanzar el beneficio, aunque la dosis recomendada es dentro del rango de 10^7 a 10^9 UFC/g/día (Muhammad *et al.*, 2021).

Las tendencias actuales adaptadas a las nuevas necesidades de los consumidores consisten en formular alimentos que contengan probióticos promoviendo los cuidados del microbioma intestinal, previniendo ciertos problemas del tracto gastrointestinal (GIT) y

enfermedades como la obesidad, la diabetes tipo 2, el autismo, la osteoporosis y ciertos trastornos inmunológicos retrasando su progresión. Además, estos microbios pueden también relacionarse con mejorar la salud oral, nutricional e intestinal solidando mecanismos de defensa en contra de patógenos intestinales particulares (Muhammad *et al.*, 2021). Los efectos positivos dependen del tipo de cepa microbiana. Entre los más comunes se encuentran las BAL y las bifidobacterias, mientras que los mohos y levaduras son menos frecuentes. Estos microorganismos se introdujeron desde 1980 donde se describió que dispone una gran cantidad de células viables que tienen un gran impacto beneficioso, no son tóxicos, alérgicos ni patógenos, se adecuan para el medio del intestino, se almacenan y se estabilizan (Muhammad *et al.*, 2021).

2.2.6 Metagenómica

La metagenoma se definió como la colección teórica de todos los genomas de los miembros de un entorno microbiano específico, Billington *et al.*, (2022) describen a la metagenómica como la secuenciación no dirigida de todo el contenido genómico (ADN o ARN) de las comunidades. Coughlan *et al.*, (2015) expresan que la metagenómica es una herramienta molecular que estudia los microorganismos por medio de análisis de ADN adquirido de muestras ambientales, sin tener cultivos puros, esta técnica no solo puede revelar la identidad de las especies presentes, sino que también proporcionan información sobre las actividades metabólicas y funcionales de los microbios presentes en el entorno. Ayhan *et al.*, (2021) enuncian que las técnicas moleculares permiten realizar un estudio más preciso de los microorganismos, ya que son específicas, rápidas, sensibles y precisas.

La metagenómica ha superado los enfoques dependientes del cultivo y mejorado la calidad de los resultados ampliamente. Esta tecnología utiliza la elección de cebadores para la amplificación y la precisión de los canales bioinformáticos junto con la taxonomía. Estos cebadores o primers son segmentos cortos de ADN de cadena sencilla, que se copian o amplifican de acuerdo con lo que se elija investigar, por lo general contienen 20 nucleótidos (Mancabelli *et al.*, 2020; Wilkin, 2016).

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una aplicación enzimática que se mide por cebadores (primers) y que contienen la secuenciación de los nucleótidos (cadenas cortas de ADN) o pares de bases, este paso es elemental de la metagenómica. La reacción

tiene lugar por la enzima Polimerasa Taq que es termoestable y se cataliza generando millones de copias de la secuencia principal. Son procedimientos que se analizan por medio de un gel de agarosa, donde se diferencian por el tamaño y se comparan con marcadores de pesos conocidos (Guitierrez y Jurado, 2020).

La tecnología de secuenciación de próxima generación redujo el costo a menos de \$20 000 dólares en equipos y maquinaria, y aumentó la facilidad de secuenciación del genoma microbiano completo, este enfoque de la ciencia revolucionó la identificación y el análisis de patógenos transmitidos por alimentos, así se facilita la detección y mitigación acelerada de brotes de contaminación; esta técnica mejora los resultados de la salud pública. La secuenciación de próxima generación aún está atada en la práctica tradicional de laboratorio de selección y cultivos de aislado único. La metagenómica tiene tres orientaciones como son la de código de barras, de escopeta y de larga lectura, que son parte de la revolución en el diagnóstico de la seguridad alimentaria. La metagenómica ayuda a definir los microorganismos involucrados en el proceso de fermentación, ya que se caracteriza genéticamente cada microorganismo presente en el entorno ecológico, de manera que se puede garantizar el control de calidad y la reproducibilidad de estas bebidas tradicionales (Villarreal *et al.*, 2018; Billington *et al.*, 2022).

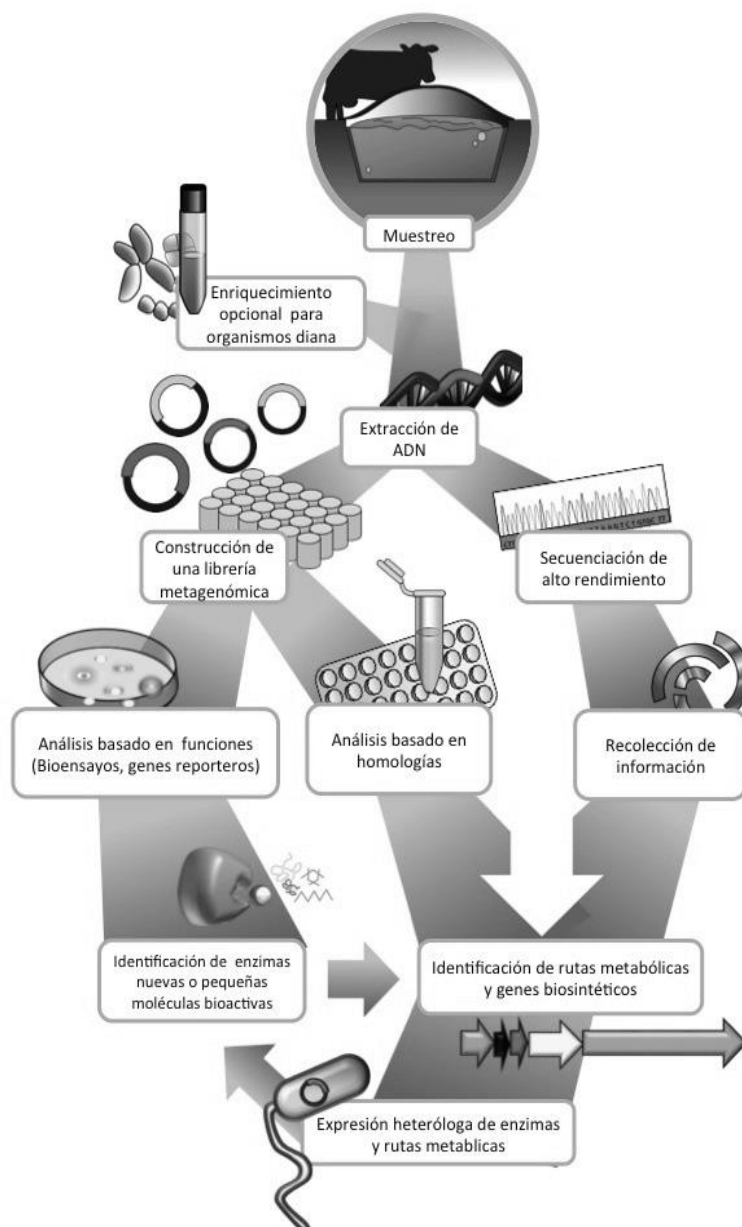
En la metagenómica, se identifican directamente las comunidades microbianas presentes en un alimento, ingrediente o muestra ambiental mediante un solo ensayo, sin necesidad de cultivarlas. Muchos microorganismos no pueden ser cultivados, aunque se encuentren en un estado viable; ya que cada especie requiere de un proceso de selección y purificación individual, lo que limita la velocidad y la utilidad potencial de la tecnología de secuenciación debido al tiempo que esto conlleva. No obstante, la metagenómica rápida permite una considerable ampliación del estudio de los microorganismos en alimentos fermentados, proporcionando una visión integral de su composición, diversidad y potencial funcional (Billington *et al.*, 2022; Leech, Cabrera, *et al.*, 2020).

Actualmente, se ha estudiado el aislamiento e identificación de microorganismos beneficiosos; junto con los análisis de la diversidad microbiana en alimentos fermentados, esto ha permitido una mejor comprensión del medio ambiente y los alimentos, además, ha contribuido a avances en la secuenciación de alto rendimiento como son los métodos moleculares. Los genomas metagenómicos son importantes en estudios de la historia evolutiva de cepas y microorganismos alimentarios ambientales (Zhang *et al.*, 2021).

Diversas investigaciones han reconocido que los alimentos fermentados tradicionales son beneficiosos para la salud desde tiempos inmemorables. Los métodos tradicionales de análisis proporcionan información valiosa sobre las características físicas antes de que finalice la fermentación. Sin embargo, no revelan la diversidad microbiana presente. Por ello, el uso de técnicas moleculares ha permitido profundizar en el estudio de la microbiología de los alimentos y otras áreas del conocimiento (Deka *et al.*, 2021). En la figura 1 se describe un breve diagrama de flujo general del proceso de la metagenómica.

Figura 1.

Diagrama de flujo general de un Metagenoma. Resumen esquemático de las etapas implicadas en un estudio de metagenómica.



2.2.7 Árbol filogenético de microorganismos

Según Libretexts (2022) de biología menciona que la filogenética microbiana es el “estudio de la relación evolutiva entre diversos grupos de microorganismos”. Por otro lado, Navas (2014) indica que la filogenética es “la clasificación en base a relaciones evolutivas”.

La filogenia molecular es usada para investigaciones comparativas en la genética, esto se basa en modelos explícitos en la evaluación de nucleótidos para evaluar parámetros evolutivos en cuanto a las longitudes de rama y topología del árbol. La caracterización genotípica y fenotípica de los microorganismos parten de una cepa aislada o de todo un entorno de los alimentos, suelos, aire, agua (Flores y Rodríguez, 2020; Sornchuer *et al.*, 2022).

La metagenómica ha tenido avances rápidos en el descubrimiento de catálogos de microorganismos, bacterias, virus en numerosos entornos del mundo siendo considerados como ubicuos, es decir que se reflejan desde el intestino humano hasta lo más profundo del océano, con esto se comprende toda la diversidad genómica (Dion *et al.*, 2020; Libretexts, 2022).

El análisis filogenético ayuda a comprender cual es la trayectoria evolutiva por la que pasan los organismos. Por el avance en la biología molecular moderna y la innovación tecnológica la filogenia de un gen o microorganismo se desarrolla en la secuenciación de ácidos nucleicos, secuencias de bloques de construcción en macromoléculas informativas, o en el caso de las bacterias se puede desarrollar el modelo de tres dominios (Libretexts, 2022). La vinculación de la información antes mencionada permitió comprender el desarrollo de la estructura de los microorganismos.

2.3 Marco legal

El presente trabajo se sustentó en el Art. 401 de la Constitución del Ecuador, (2008) se “*declara al país libre de cultivos y semillas transgénicas. Excepcionalmente, y solo en caso de interés nacional debidamente fundamentado*”, considerando la producción de maíz, en el Art. 387. 2 se destaca que se debe “*promover la generación y producción de conocimiento, fomentar la investigación científica y tecnológica, y potenciar los saberes ancestrales*”, lo cual se fortalece en los artículos 385. 2 y 387. 4. que indican ” *Recuperar,*

fortalecer y potenciar los saberes ancestrales”, “Garantizar la libertad de creación e investigación en el marco del respeto a la ética, la naturaleza, el ambiente, y el rescate de los conocimientos ancestrales” respectivamente.

La Ley Orgánica de la Salud, (2006) enuncia en el capítulo II los artículos 145, 147, 148, 149 y 152 la inocuidad, la importancia de una buena manipulación desde las materias primas hasta el producto, capacitaciones pertinentes para artesanos para obtener notificaciones sanitarias y la responsabilidad de los agricultores y productores para asegurar la calidad.

El Codex Alimentarius gestiona la norma CXS 223-2001 para el kimchi, que se centra en la col china. Esta norma, al ser aplicable a un producto fermentado, puede servir como referencia para establecer criterios de calidad y niveles máximos de contaminantes y toxinas en la chicha de jora. (Codex Alimentarius, 2017; Codex Alimentarius, 2005). La Normativa Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2395, pone especial atención en la calidad microbiológica, el límite máximo permitido para coliformes (INEN, 2011; Rivera, 2019) Además, la NTE INEN 184 regula las bebidas alcohólicas, estableciendo los requisitos de calidad, seguridad y composición que deben cumplir las bebidas fermentadas, (INEN, 2014). La chicha de jora es un producto que contiene probióticos por lo cual se consideró lo que enuncia la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA) en cuanto a la definición de los probióticos.

Los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) se enfatiza con esta investigación en los objetivos 2: hambre cero porque la chicha de jora al ser una bebida nutritiva puede contribuir a la seguridad alimentaria y mejorar la nutrición, especialmente en las comunidades rurales donde el acceso a una dieta balanceada es limitado. ODS 3: salud y bienestar, pues este producto tiene probióticos que mejoran la salud digestiva y bienestar en general. ODS 8: trabajo decente y crecimiento económico, en cuanto a la producción y venta de chicha de jora que puede generar empleo y apoyar a la economía local, suministrando pequeños ingresos a agricultores y productores artesanales. ODS 12: consumo y producción sostenible, mismo que fomenta la producción y consumo de chicha de jora para fomentar prácticas agrícolas sostenibles y el uso de cultivos tradicionales que contribuyen a la biodiversidad y sostenibilidad. Finalmente el ODS 15: vida de ecosistemas terrestres, pues los cultivos de maíz y otros ingredientes en la elaboración de

la chicha de jora pueden apoyar a la conservación de prácticas agrícolas tradicionales que refuerzan los ecosistemas saludables (ONU, 2015).

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1 Descripción del área de estudio

El desarrollo de la investigación se realizó en Ecuador provincia del Carchi, cantón Tulcán, en el laboratorio 203 Análisis de Calidad de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi (UPEC) de la Facultad de Industrias Agropecuarias y Ciencias Ambientales. Se elaboró la chicha de jora y se realizaron los análisis fisicoquímicos. El grupo de estudio fueron los microorganismos que se desarrollaron en el proceso de fermentación de la chicha al utilizar la jora sin tostar y tostada. Las muestras de los tratamientos fueron analizadas en el laboratorio “Biosequense” de la ciudad de Quito- Ecuador para el análisis de metagenómica.

3.2 Enfoque y tipo de investigación

3.2.1 Enfoque

La investigación tiene un enfoque mixto, porque aborda un enfoque cualitativo y cuantitativo, es decir que se ofrece diferentes puntos de vista integrándolos (Acosta Faneite, 2023). El enfoque cualitativo hace referencia a la clasificación de los microorganismos que fueron detectados en el análisis metagenómico donde se utilizó la base de datos NCBI, BLAST y material bibliográfico de las investigaciones científicas. Los datos de carácter numérico corresponden al enfoque cuantitativo (Arias y Covinos, 2021), se consideraron los datos de los análisis fisicoquímico de la chicha de jora, para el análisis estadístico que permitió determinar el mejor tratamiento, de acuerdo al cumplimiento de los parámetros de la norma INEN 2322.

3.2.2 Tipo de investigación

La presente investigación es de tipo experimental ya que permite establecer la relación causa – efecto en la elaboración de chicha de jora. En los tratamientos se utilizó jora tostada y sin tostar y se determinó el efecto en características fisicoquímicas y microbiológicas del producto, explicativa pues se buscó la explicación científica para la construcción del árbol filogenético (Condori, 2020). Además, la investigación fue

correlacional porque sirvió para determinar las variables estadísticas que se relacionan entre sí, como las fisicoquímicas que formaron parte del ANOVA (Condori, 2020; Revilla, 2021).

3.3 Definición y operacionalización de variables

3.3.1 Definición de las variables

Para la elaboración de la chicha se consideró el estado de la jora y los días de fermentación como variables independientes. Las variables dependientes fueron el tipo de microorganismo y los parámetros fisicoquímicos (°Brix, pH y grado alcohólico) de la chicha de jora. A continuación, se detallan las categorías de cada variable.

Variables Independientes

- Estado de la jora
 - Tostada
 - Sin tostar
- Tiempo de fermentación de la chicha
 - Día 2
 - Día 4
 - Día 6

Variables dependientes

- Tipo de microorganismo
 - Mohos
 - Levaduras
 - Bacterias
 - Microorganismos probióticos
 - Microorganismos patógenos
- Parámetros fisicoquímicos de la chicha de jora
 - Grados Brix
 - pH
 - Grado de alcohol

3.3.2 Operacionalización de variables

Tabla 1.

Operacionalización de las variables estudiadas

Variables	Dimensión	Indicadores	Técnica	Instrumento
Independientes:				
Estado de la jora	Tostada	- 65°C por 30 min	Tostado	(Collazoz y Arbañil, 2022)
	Sin tostar			
Tiempo de fermentación de la chicha	Chicha fermentada	- 2 días - 4 días - 6 días	Cronológica	Ancestral Peruvian ethnic fermented beverage “Chicha” based on purple corn (<i>Zea mays</i> L.): unraveling the health-relevant functional benefits (Vargas <i>et al.</i> , 2020)
Dependientes:				
Tipo de microorganismo	Mohos	- <i>Humicola nigrescens</i>	Metagenómica	(Navgire et al., 2022).
	Levaduras	- <i>Wickerhamomyces anomalus</i>		(Rodríguez y García, 2017)
	Bacterias	- Bifidobacterium		
	Microorganismos probióticos	- Bacterias ácido-lácticas (BAL), bacterias ácido-acéticas (BAA),		
	Microorganismos patógenos	- Enterobacter, <i>Salmonella</i> , Pseudomonas, <i>Bacillus cereus</i>		
Análisis fisicoquímicos	Calidad fisicoquímica	- Contenido de alcohol (hasta 10 °) - Sólidos solubles totales (entre 8 a 13 °Bx) - pH (entre 3.21 a 3,72)	Volumetría Refractometría Potenciometría	(Bassi <i>et al.</i> , 2020) (INEN 2322, 2002)
Probióticos	Clasificación en el árbol filogenético	- Microorganismos	Mega	(Rodríguez y García, 2017) Bases de datos NCBI, BLAST

3.4 Procedimientos

La presente investigación se realizó en 4 etapas, que se detallan a continuación.

3.4.1 Elaboración de la chicha de jora

El maíz utilizado para la elaboración de la chicha de jora es un producto cultivado por el señor Samuel Jurado oriundo del cantón Bolívar, parroquia Bolívar provincia del Carchi-Ecuador, quien donó la materia prima para este estudio.

Los granos de maíz fueron seleccionados de acuerdo con la norma INEN 187 (2013), se colocaron en un recipiente cilíndrico que permita tener un espacio de cabeza de 10 cm, se adicionó agua potable hasta que rebase los 5 cm de la superficie de los granos, se dejó reposar por 24 h, con la finalidad de que el grano absorba agua para la germinación.

Transcurrido el tiempo establecido se procedió a escurrir el maíz en un cedazo hasta que no escurra el agua. En un lugar fresco (15 °C aprox.) y oscuro se desarrolló la germinación por 72 h, para lo cual, se colocó el grano remojado en una bandeja plástica procurando que se encuentre en una sola capa, se tapó con un lienzo húmedo con la finalidad de mantener humedad y evitar la contaminación cruzada, cada 24 h se revisó la humedad de los granos, en el caso de estar secos se procedió a atomizar agua, en cantidad suficiente para mantener la humedad inicial entre 30 – 35%.

El secado al sol de los granos de maíz germinado se llevó a cabo durante 8 horas, para lo cual, se colocaron los granos de maíz germinados en una bandeja más amplia que permita la separación de los granos en aproximadamente 1 cm, con la finalidad de asegurar una evaporación adecuada del agua en cada grano, se debe remover cada 2 horas.

Tostado de la jora (T2) en el proceso de tostado de la jora se realizaron pruebas preliminares con la finalidad de establecer temperaturas y tiempos hasta conseguir el color caramelo. La jora se tostó en una estufa a 65 °C por 30 min. removiendo con frecuencia para que no se quemen, estos granos presentaron una humedad de 10 %.

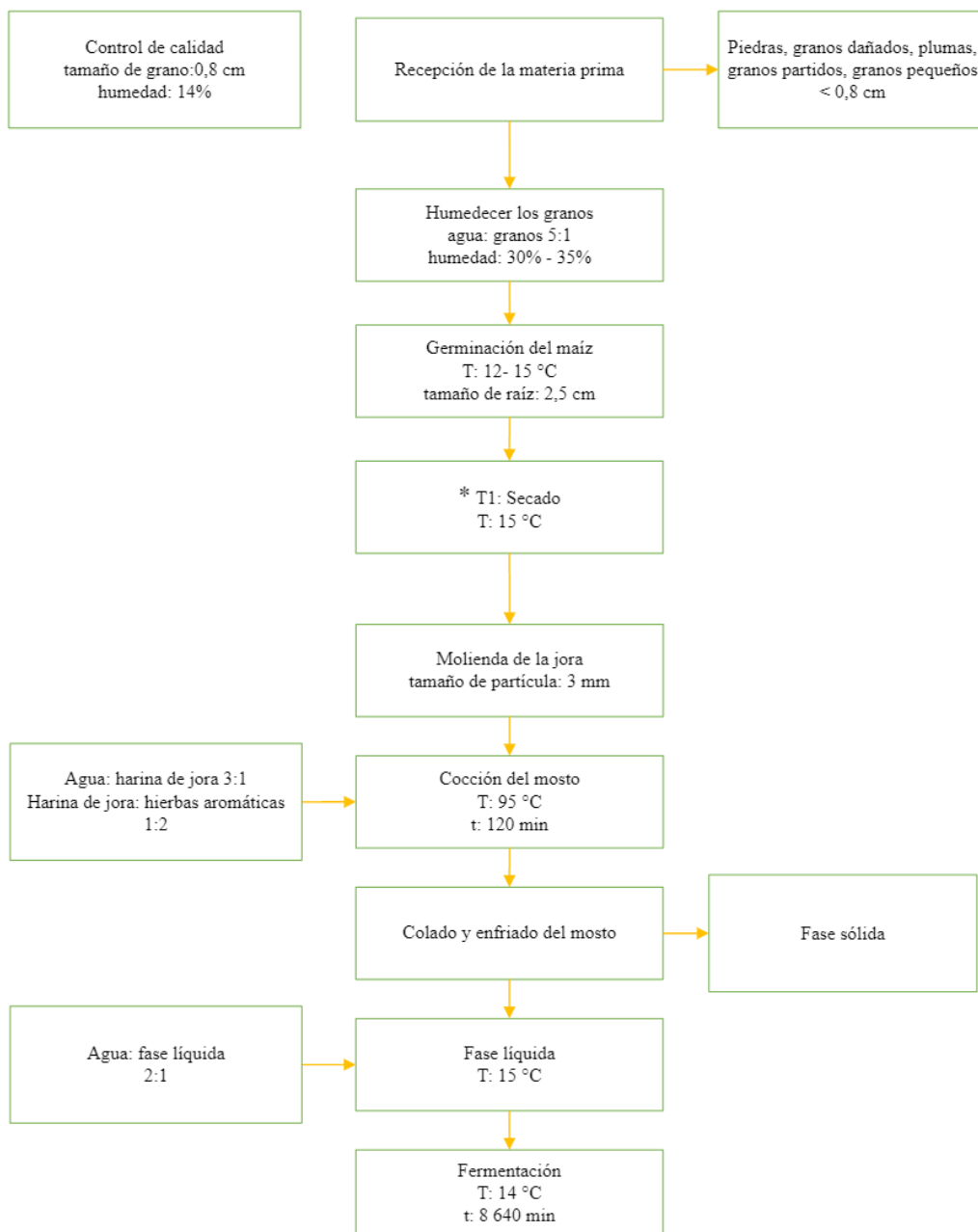
Para la elaboración de los dos tratamientos de la chicha de jora se consideraron la jora sin tostar (T1) y tostada (T2), las cuales fueron trituradas por separado en un molino hasta obtener un tamaño de partícula de 3 mm (Moreira *et al.*, 2020; Jaramillo, 2022).

Para la preparación del agua aromática se colocó en una olla de acero inoxidable con una capacidad de 5 L se añadieron 2,25 L de agua potable, 5 g de clavo de olor, 15 g congona, 100 g de cedrón, 100 g hierba luisa, 50 g de canela y 100 g de panela, se mantuvo a ebullición por 15 minutos, se filtró y se dividió el agua aromática en partes iguales en dos recipientes.

En un recipiente de acero inoxidable de capacidad de 5 L se colocó la jora sin tostar triturada y se añadió el agua aromática, se sometió a cocción por 2 h y se dejó en reposo 6 h en un lugar fresco y libre de partículas contaminantes. Transcurrido el tiempo, se trasvasó en fermentadores previamente identificados y se adicionó 2,5 L de agua fría, se mantuvo 144 h a 14 °C, transcurrido el tiempo se filtró con la ayuda de un lienzo, la fase líquida se envasó en recipientes transparentes de vidrio de tapa rosca y el sedimento fue desechado. Para la jora tostada y triturada se siguió el mismo proceso.

Figura 2.

Diagrama de flujo de la chicha de jora



Nota: * para el T2 se reemplaza la jora tostada y se realiza el mismo proceso de elaboración

3.4.2 Análisis metagenómico

Una vez empezada la fermentación se envió las muestras a las 96 h en un envase aséptico y herméticamente cerrado para el análisis de metagenómica. Esta técnica de biología molecular inicia con la extracción del material genético, en el cual se utilizó un kit comercial ZymoBIOMICS DNA (para bacterias, hongos, protozoos, algas, virus o mitocondrias a base de columnas) para obtener el ADN total de los microorganismos presentes en la muestra. Luego se amplificó las regiones de interés utilizando el ADN genómico extraído de cada tratamiento, en el cual se utilizó primers específicos establecidos en la hoja de registro, se identificó la presencia o ausencia de los microorganismos, con el primer primer se realizó un lavado con perlas magnéticas para purificar el amplicón ITS, ITS2 de primers libres y especies de dímeros primers. Finalmente se realizó un análisis de diversidad de los archivos Fastq que se sometieron a un proceso de calidad de toda la taxonomía, se utilizó la implementación de un algoritmo de alto rendimiento del clasificador Ribosomal Database Project (RDP) y en la base de datos de UNITE Fungal ITS Database v7.2 (Wang *et al.*, 2007; ÚNETE Comunidad, 2017).

3.4.3 Análisis filogenético de los microorganismos probióticos

La representación del árbol filogenético partió con la identificación de los microorganismos de levaduras, hongos y bacterias con capacidad probiótica en la chicha de jora, porque son los microorganismos de interés para considerar a este producto como una bebida funcional. Se construyeron los árboles filogenéticos en MEGA11 X con el método de Neighbor-Joining y Máxima Verosimilitud, junto con la base de datos de BLAST y NCBI, con la aplicación de cadenas cortas (Kumar *et al.*, 2018; Balseca, 2021). Para formar el árbol se seleccionó el nombre y código específico de cada microorganismo obtenidos en la metagenómica, se tomó una de las cadenas cortas de ADN de la segmentación de cada una de las levaduras, hongos y bacterias; por último, se corre en el programa y se despliega una nueva página con la formación del árbol (Del Caso, 2021).

3.4.4 Análisis físicoquímico de la chicha de jora

Se determinó sólidos solubles, grado alcohólico y acidez titulable, en la chicha de jora sin tostar y tostada en los días 2, 4 y 6 de fermentación.

El grado alcohólico se determinó con el método volumétrico de la INEN 2322. Bebidas alcohólicas. Cerveza. Determinación de alcohol, en el cual se tomó 800 mL de muestra de cada uno de los tratamientos, se colocó en una probeta de 1000 mL y se midió con el alcoholímetro, se esperó 4 min y se leyó la cantidad de alcohol (EuroLab, 2023).

Los sólidos solubles se analizaron según la norma INEN 2322. Bebidas alcohólicas. Cerveza. Se tomó de 4 a 6 gotas de bebida previamente homogenizada en el refractómetro, se observó en el lente procurando orientar la luz de forma correcta, se tomó la lectura expresada en °Brix (Willa *et al.*, 2021).

El pH se determinó con el método definido según la norma INEN 2322. Bebidas alcohólicas. Cerveza. Determinación del pH, se tomó 50 mL de cada muestra en un vaso de precipitación de 100 mL, se homogeniza la muestra y se coloca el sensor de pH del potenciómetro, y se tomó el valor una vez que se estabilizó la lectura (Ivanišová *et al.*, 2020, Chasiloa, 2021).

3.4.4.1 Diseño experimental

Para el análisis físico químico se aplicó un Análisis de Varianza (ANOVA) de dos vías que involucra a dos factores que son el estado del maíz germinado o jora (sin tostar y tostado) y el tiempo de fermentación en los días 2, 4 y 6. La variable dependiente considerada fueron los parámetros fisicoquímicos (grado de alcohol, °Brix y pH.).

Las unidades experimentales fueron de 5 litros por cada tratamiento, de los cuales se tomaron 50 mL para la determinación del pH, 400 mL para los grados de alcohol y 0,5 mL para medir los °Brix por cada repetición.

El análisis de varianza de 2 factores o de doble vía permitió verificar si existe o no diferencia estadísticamente significativa en la variable respuesta por efecto de los factores individuales y su interacción. Adicional, se utilizó la prueba de Tukey en las variables que resultaron con diferencias estadísticamente significativas a fin de comparar todos los posibles pares de cruces de nivel y su significancia. Se tomó en cuenta un nivel de significancia del 95 %.

El test de Friedman es una alternativa no paramétrica para ANOVA, se asume algunas simplificaciones y se considera como una comparación de medias en varios grupos. Este test es apropiado cuando se quiere estudiar la diferencia de los datos (Rodrigo, 2016).

Los supuestos de normalidad, homocedasticidad e independencia se mantuvieron en cada tratamiento y fue inferior a 50 ($n < 50$), la prueba de Levene se usó para comprobar homogeneidad de varianza (homocedasticidad). Para verificar el supuesto de independencia se utilizó la prueba de Rachas.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Características del color de la chicha de jora

La chicha de jora sin tostar T1 presentó un color blanco grisáceo poco apetecible. El producto del T2 con jora Tostada presentó un color caramelo típico de este producto, el cual se debe a la reacción de Maillard de los azúcares presentes en el maíz germinado (jora) desarrollado en el proceso de tostado a 65 °C por 30 min. lo cual coincide con lo que menciona (Hernández, 2023).

4.2. Parámetros físicos y químicos de las chichas de jora tostada y sin tostar

A los 2, 4 y 6 días de fermentación se tomaron muestras de los dos tratamientos (T1 y T2), para determinar los grados Brix, pH y grado alcohólico, los resultados obtenidos se detallan a continuación:

4.2.1 Grados Brix

En la figura 3 se evidencian los resultados de las medias de los °Brix de la chicha de jora sin tostar (T1) y tostada (T2). Los Grados Brix del T1 se mantienen en un rango de 7,6 a 9,2 durante los 6 días de fermentación, esto se debe a en la jora cruda los microorganismos no logran degradar todos los azúcares. En el T2 los valores del Grado Brix se encuentran en un rango de 2,1 a 3,1 durante los seis días de fermentación, valores inferiores a los del T1, esto se debe a que los azúcares fueron hidrolizados en el tostado, haciéndolos más disponibles para los microorganismos y disminuyendo los sólidos presentes en el producto, lo cual coincide con lo que menciona Bustamante (2019). A los 6 días de fermentación los azúcares solubles se transforman en etanol y anhídrido carbónico (CO₂), por ende, el valor de los grados Brix disminuye, dato que se compara con lo que menciona Camacho (2019).

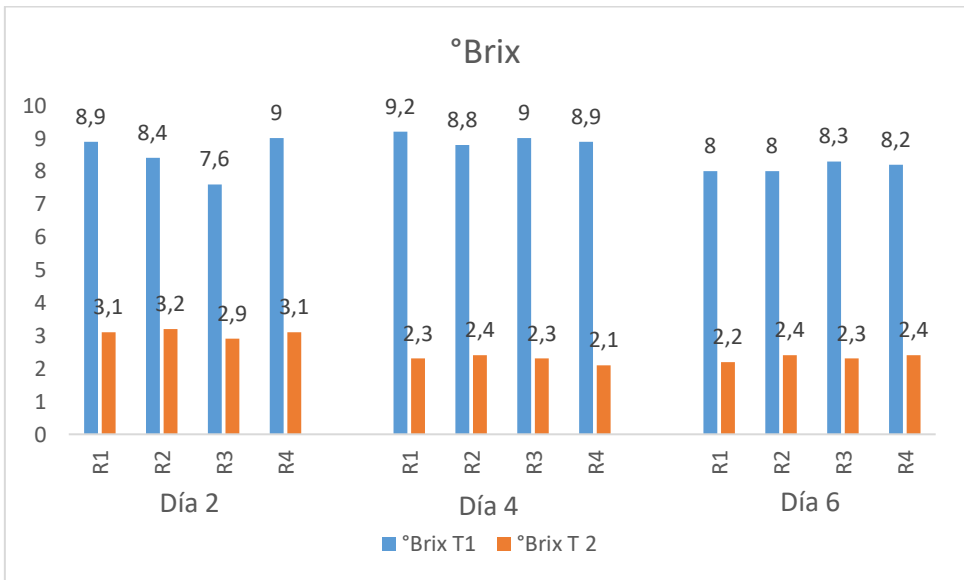
En los valores que presentan los grados Brix existe diferencia estadísticamente significativa (anexo 1) por efectos del tiempo que fue de 2, 4 y 6 días, y del estado de la jora, sin tostar y tostada y su interacción entre los dos. Se considera que el estado de la jora es el factor que influye considerablemente en los grados Brix debido a que el estadístico ($F=2.554.764$) es superior que en el tiempo ($F=7.734$).

Pineda *et al.* (2023) menciona que, al fermentar la chicha de jora, los grados Brix llegan a 11,06 cuando el proceso de macerado se realiza en 7 días, esto se debe al mayor tamaño de la partícula en la molienda, por tanto, existe una mayor influencia cuanto más fino sea la partícula.

En la prueba post hoc (Tukey) se identificó a los pares que tienen diferencia estadísticamente significativa (anexo 2). El análisis de grados Brix involucró a los factores y niveles con el p valor, que indican que la interacción de los posibles cruces son en el día 6 y 4 con jora tostada con un valor mayor a 0,9998 y en los días 2 y 6 con jora sin tostar que presentaron un p valor superior a 0,05 que fue de 0,5417, esto se compara con lo que indica Pineda *et al.*, (2023) que al fermentar la chicha de jora en 7 días, existe una diferencia a partir del día 3 hasta el día 5 por el cambio de los grados Brix.

Figura 3.

Grados Brix de las chichas de jora T1 y T2



4.2.2 pH

Las medias del pH en la jora sin tostar (T1) tiene variaciones irregulares y los valores se acercan a un estado ácido en el día 2, conforme pasan los días se va tornando básico, sin embargo, los valores de T2 se mantienen en la escala del lado ácido con el tiempo empiezan a generar gases como el CO₂ que ocasionan la fermentación, siendo los

responsables de aumentar la acidez y generar burbujas. En la figura 4 se aprecia el aumento y disminución de este parámetro.

La chicha de jora es una bebida media ácida y picante. El pH se encuentra entre 3,21 y 3,72 se debe considerar que el tiempo de fermentación influye en la acidez y por ende mejorará los sabores finales (Willa *et al.*, 2021). El pH puede cambiar por la variedad de la materia prima (maíz), composición inicial en el uso de azúcar o panela, la interacción de los sólidos solubles para el desarrollo de los microorganismos, la temperatura de germinación y de fermentación (Vargas-Yana *et al.*, 2020).

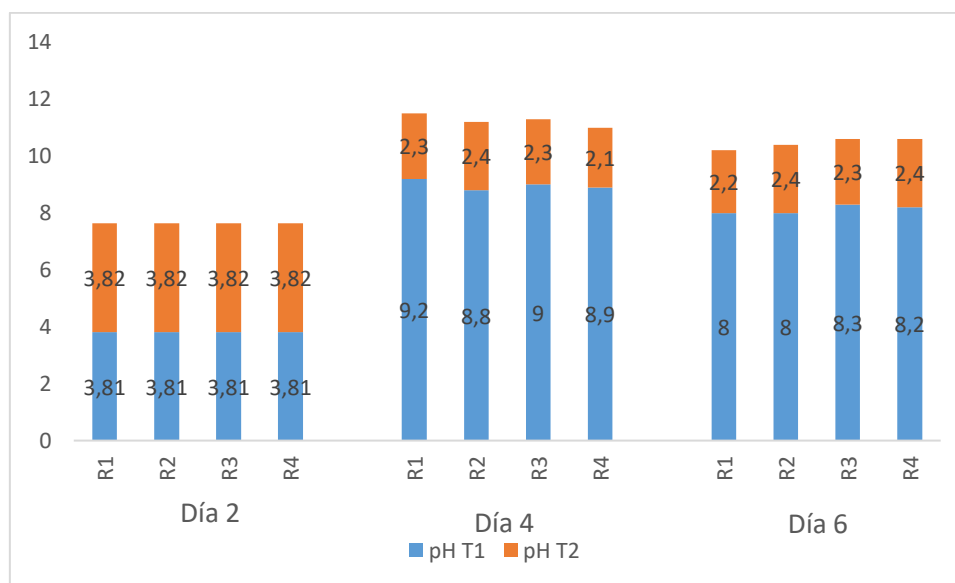
En los valores de pH, existen diferencias estadísticamente significativas por influencia de los días de fermentación, estado de la jora y la interacción de los dos (anexo 1). Se considera que el estado de la jora influye mayormente en este parámetro, por el estadístico ($F= 8139$) que supera a los días (tiempo), lo cual concuerda con lo que menciona Aguilar (2021) en su investigación indicó que el pH de la chicha de jora es más influenciado por el tiempo de fermentación, que fue de 14 días que, por el estado de la jora considerando el proceso y la materia prima utilizada, lo que significa que mientras más días de fermentación tenga la bebida más ácida se tornará.

En el post hoc del análisis de pH se involucró a los factores y niveles con el p valor para ver la interacción de los posibles cruces (anexo 3). Los valores que se encuentran al extremo de los que no son compatibles a los resultados. Los tratamientos en los que se evidencia la interacción y la diferencia estadísticamente significativa fueron en los pares del día 4 y el día 6 con jora tostada y en el día 2 con jora tostada y el día 2 con jora sin tostar superiores a 0,05.

Aguilar 2021 expresa que el tipo o estado de la jora es afectado por el tamaño de partícula, lo que significa que al momento de hacer el producto influye. En su investigación obtuvo una interacción en los días 4 y 6 con jora natural y con jora adicionada con microorganismos.

Figura 4.

pH de las chichas de jora T1 y T2



4.3.3 Grado alcohólico

El grado alcohólico de la chicha de jora es proporcional a los grados Brix puesto que, al terminarse los sólidos solubles totales por la hidrólisis de los azúcares la fermentación va aumentando hasta llegar al máximo que es 11 % de alcohol, pero los grados Brix se saturan y pueden no fermentar más y dañar al producto. En esta investigación se paró la fermentación al día 6, para que se pueda consumir como una bebida fresca que no cause mal estar, en la figura 5 se detalla la evolución de los valores del grado de alcohol de cada tratamiento en los días 2, 4 y 6.

Los grados de alcohol que presenta la chicha se ve influenciado por el tiempo de fermentación sobre el estado de jora (anexo 1) donde el estadístico $F= 9746.80$, lo que indica que tiene mayor influencia.

Canales (2023) menciona que los grados de alcohol tienen efecto por los días de fermentación y sobre el tipo o estado de la jora, este autor fermentó al producto en 18 días con la adición de componentes externos, mientras que en esta investigación se utilizó la jora natural, sin la adición de sustancias externas al proceso ancestral.

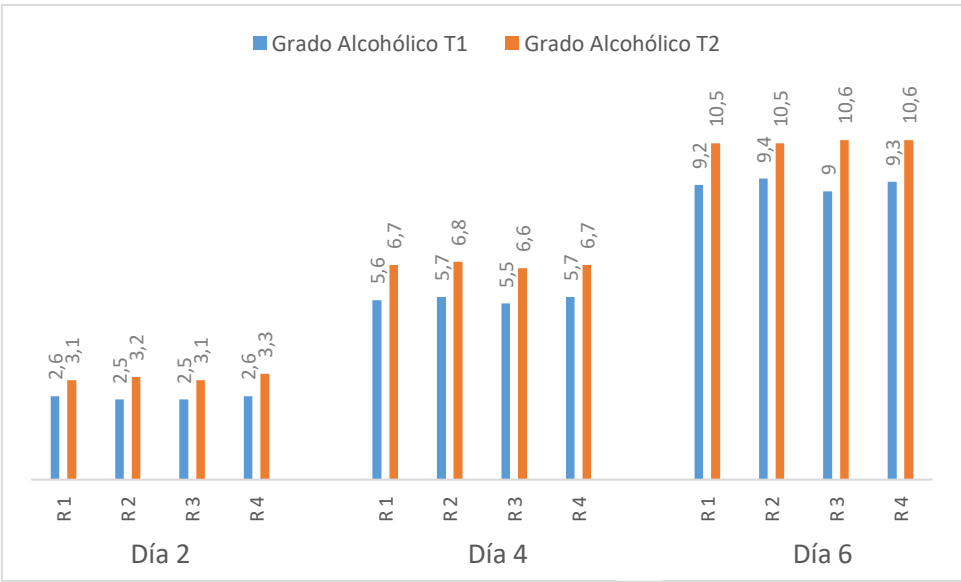
Los grados de alcohol involucraron de igual manera a factores y niveles con el p valor para verificar la interacción de los posibles cruces que son estadísticamente diferentes (anexo 4). En la medición de los grados de alcohol, se tomó en cuenta los dos tratamientos

que fueron con jora sin tostar (T1) y tostada (T2), en los días 2, 4 y 6 de fermentación, dicho esto se evidencia las diferencias estadísticamente significativas para cada posible cruce.

Canales (2023) enuncia que al pasar los días de fermentación el grado de alcohol aumenta por lo que los pares comparados tienen diferencia estadísticamente significativa de un tratamiento a otro, lo cual coincide con los resultados de la presente investigación, como se puede observar en la figura 5, el T2 presenta un grado alcohólico de 10,6 superior al de la chicha del T1 cuyo valor es de 9,4.

Figura 5.

Grado alcohólico de las chichas de jora



4.3 Identificación de los microorganismos presentes en la chicha de jora por metagenómica

Los resultados del análisis metagenómico permitieron identificar el reino, el filo, la clase, el orden, la familia, el género y la especie, de los microorganismos las comunidades microbiológicas presentes en la chicha de jora de los tratamientos de jora sin tostar (T1) y jora tostada (T2). Cabe destacar que las lecturas de la secuenciación del ADN o ARN de los microorganismos presentes en las muestras fueron sometidas a un proceso bioinformático para darles a estas lecturas una identidad (clasificación taxonómica).

4.3.1 Mohos y levaduras

Para la identificación de mohos y levaduras se utilizaron los primers o cebadores ITS 4 para hongos e ITS 86F para levaduras, mismas que se encuentran en diferentes regiones del material genético y que permiten identificar la taxonomía de los microorganismos. Se han utilizado estos primers porque son específicos para la lectura de mohos y levaduras., así se consigue mayor precisión de lectura en el análisis (Andrade *et al.*, 2020).

La chicha elaborada con jora sin tostar (T1) presentó 19 844 lecturas del primer de espaciador transcrito interno (ITS), de las cuales se identificaron 36 especies y la chicha elaborada con jora tostada (T2) presentó 34 831 lecturas ITS, identificándose 59 especies. Esto indica que el T2 contiene 23 especies más que el T1 y que 16 están presentes en los dos tratamientos (anexo 5), en total se obtuvo 111 microorganismos para los dos tratamientos. El aumento de estos microorganismos en el T2 se debe a que en la jora tostada los carbohidratos están más disponibles para los microorganismos los cuales metabolizan los azúcares en el proceso de fermentación.

La taxonomía de los hongos (mohos y levaduras) inicia con el reino fungi, continua con el filo donde se identificó a *Ascomycota* y a su vez es subdividida en las clases que fueron *Saccharomycetes* el orden fue *Saccharomycetales*, en la familia fue *Saccharomycetales_fam_Incertae_sedis*, el género es *Candida* y la especie es *Candida intermedia*, como se detalla en la tabla 2. La descripción anterior es un ejemplo del primer microorganismo. Cada una de las especies identificados en la metagenómica tienen la taxonomía con el mismo orden que se describió anteriormente.

Tabla 2.

Taxonomía de los microorganismos del reino fungi que superan el 0,5% de lectura en el análisis metagenómico

Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species
Ascomycota***	Saccharomycetes ***	Saccharomycetales ***	Saccharomycetales_fam_Incertae_sedis***	Candida ***	Candida intermedia *
					Candida quercitrusa *
				Wickerhamomyces	Wickerhamomyces anomalus **
	Sordariomycetes ***	Sordariales **	Phaffomycetaceae**	Meyerozyma *	Meyerozyma caribbica *
			Debaryomycetaceae *	Humicola **	Humicola nigrescens **
			Chaetomiaceae**	Chaetomidium **	Chaetomidium gallecicum **
Basidiomycota ***	Microbotryomycetes ***	Hypocreales **	Hypocreales_fam_Incertae_sedis**	Subramaniula **	Subramaniula fusispora **
				Sarocladium	Sarocladium zeae **
				Rhodotorula *	Rhodotorula mucilaginosa ***
	Tremellomycetes *	Sporidiobolales ***	Sporidiobolaceae***		Rhodotorula glutinis *
				Naganishia *	Naganishia liquefaciens *
				Filobasidium *	Filobasidium magnum *

Nota: * indican los niveles taxonómicos del T1, ** los niveles taxonómicos del T2 y *** es que comparten los niveles taxonómicos que se encuentran en los T1 y T2.

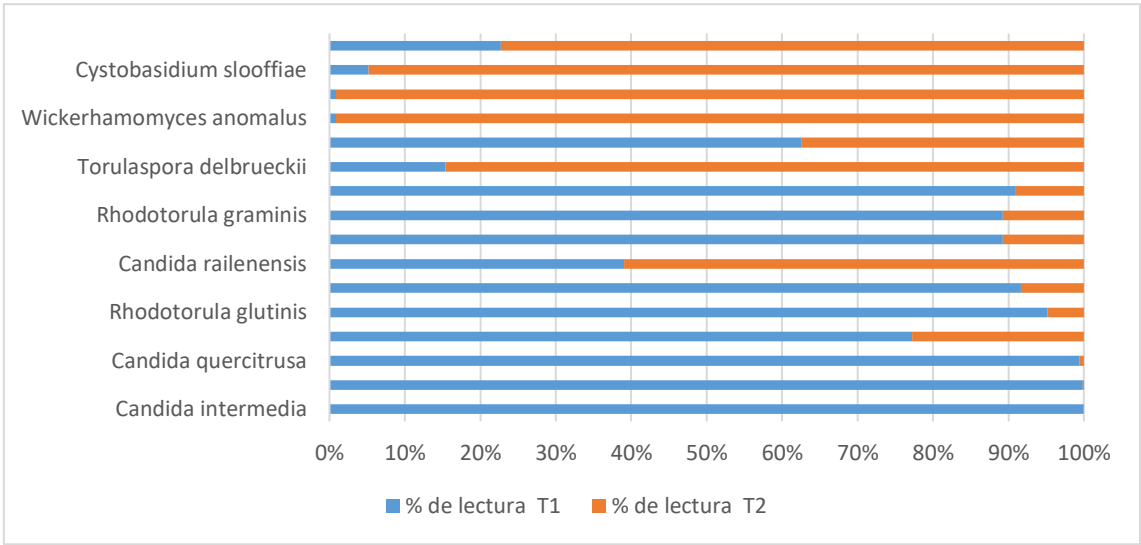
De acuerdo con la información que se detalla en la tabla 2 se determina que en el T1 se encuentran *Candida intermedia*, *Candida quercitrusa*, *Meyerozyma caribbica*, *Rhodotorula glutinis*, *Naganishia liquefaciens*, *Filobasidium magnum*, en el T2 *Wickerhamomyces anomalus*, *Humicola nigrescens*, *Chaetomidium gallecicum*, *Subramaniula fusispora*, *Sarocladium zeae* y en los dos tratamientos (T1 y T2) se encuentra *Rhodotorula mucilaginosa*. El crecimiento de microorganismos beneficiosos se modifica por el tostado de la jora, siendo un proceso clave para mejorar la fermentación y obtener colores apetecibles de la chicha de jora.

Leech, Cabrera, *et al.*, (2020) en su investigación realizaron la secuenciación de alto rendimiento de la kombucha mediante la metagenómica de escopeta, se analizaron 58 muestras con una lectura total de 347 841 507, este alimento fermentado presenta una lectura superior a la encontrada en esta investigación, cabe indicar que la técnica utilizada fue la metagenómica por amplicón cuyos resultados fueron 19 844 para T1 y 34 831 para T2. De lo que se deduce que la kombucha tiene una carga bacteriana más alta que la chicha de jora. Se comparó con este producto, porque es la referencia más cercana de bebidas fermentadas que han sido analizadas con metagenómica.

El moho que se encuentra en mayor cantidad en la chicha de jora del T2 es *Humicola nigrescens*, de acuerdo con Bala *et al.*, (2014); Camargo, (2020); Frontela, (2007) indican que este microorganismo es un moho termófilo filamentoso que tiene capacidad de producir enzimas de alto valor como las fitasas, lipasas y proteasa, mejoran la absorción del hierro de los cereales y alimentos complementarios a través de la desfitinización. Son utilizadas en procesos catalíticos y como aditivos o suplementos en dietas de monogástricos, se obtienen de fermentos sólidos de cereales y cítricos.

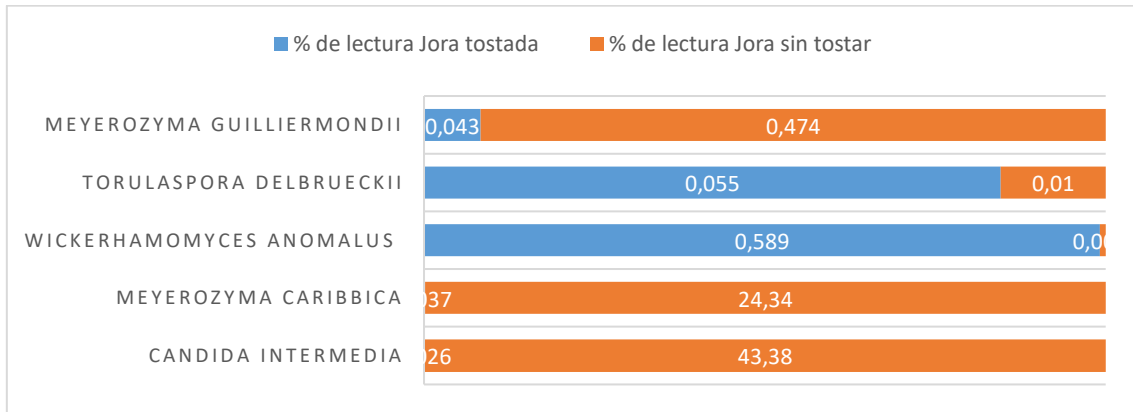
Tofalo *et al.*, (2020) describen que el uso de la biotecnología con análisis tecnológicos avanzados en la producción de alimentos fermentados y estudios profundos de la composición y carga microbiana puede reflejarse en la taxonomía ya que cumple un rol importante y funcional en los resultados como en el caso de los microorganismos que permite conocer el origen que precede a los mohos y levaduras.

Figura 6.
Microorganismos del reino fungi comunes entre los dos tratamientos



Raungrusmee *et al.*, (2022) exponen que las levaduras tienen capacidad probiótica y son influyentes en la fermentación, afectan el sabor, olor, porcentaje de alcohol y acidez del producto. Estor microorganismos poseen características beneficiosas para el huésped porque potencian a los prebióticos lo cual mejoran la digestión y por ende la microbiota del ser humano. Los microorganismos identificados fueron comparados con la base de datos (Guzmán-López *et al.*, 2023) de lo cual se determinó que 5 levaduras presentes en la chicha de jora del T1 y T2 tienen características probióticas las cuales se detallan en la figura 7. La cantidad presente define al producto como funcional puesto que supera lo establecido por INEN para bebidas con probióticos (Muhammad *et al.*, 2021).

Figura 7.
Levaduras probióticas presentes en los dos tratamientos de la chicha de jora



La presencia de levaduras en los dos tratamientos dependió del proceso de tostado que se hizo para el maíz germinado (jora), estos microorganismos se comportan de acuerdo con la temperatura que antecede en el proceso. Sin embargo, los probióticos son iguales para los dos tratamientos, la diferencia radica en los porcentajes de lectura con una variación drástica de 43,38 % a 0,01%, como se observa en la figura 7.

Setta *et al.*, (2020) indican que los productos lácteos y sus derivados han sido considerados durante años como fuentes de probióticos y nutrientes. Sin embargo, actualmente, las bebidas a base de cereales y vegetales han ganado popularidad, ya que ofrecen beneficios similares, especialmente porque disminuyen la intolerancia a la lactosa. Dinuzzo, (2020) dice que estas bebidas no lácteas son fuente de levaduras naturales que se manifiestan en las fermentaciones y potencian su capacidad alimenticia.

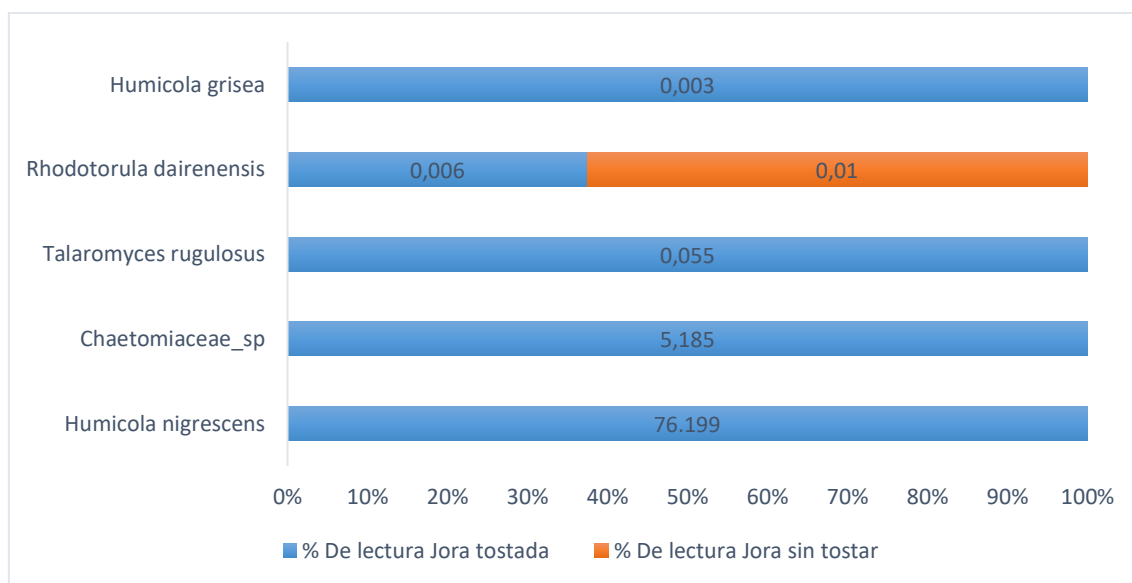
Mishra y Panda, (2022) mencionan que los cereales son una fuente de carbohidratos, micronutrientes, vitaminas B y E, fibra y proteínas. Los alimentos basados en cereales tienen una fermentación sencilla, ya que reducen la cantidad de oligo y polisacáridos no digeribles, y ayudan en la síntesis de aminoácidos esenciales. Además, su fermentación tolera pH altos y diferentes niveles de azúcar. Por ello, el uso de alimentos alternativos permite explorar el potencial de los alimentos ancestrales.

Ignat *et al.*, (2020) expresan que la biotecnología mantiene una de las herramientas más antiguas y utilizadas dentro la industria de los alimentos como es la fermentación en bebidas a base de cereales, porque es sencilla y económica. Los estilos de vida han cambiado conforme pasan los años y por eso las bebidas ancestrales y por ende funcionales se las considera como un vehículo para transportar nutrientes y compuestos bioactivos al organismo, aumentar el valor nutricional, mejorar la digestibilidad y extender la vida útil.

Algunos microorganismos identificados en la chicha de jora son capaces de producir enzimas, esto convierte al producto tradicional en una potencia de bebidas funcionales por la carga microbiana favorable para la digestión, como se observa en la figura 8 el T2 (jora tostada) tienen mayor presencia de estos microorganismos promotores de estas biomoléculas catalizadoras, entre los que están *Humicola grisea*, *Rhodotorula dairenensis*.

Figura 8.

Microorganismos del reino fungi productores de enzimas presentes en las chichas de jora



Las bebidas fermentadas a base de cereales tienen una operación representativa que es la germinación de los granos, en donde las enzimas cumplen un papel importante ya que comienzan a descomponer todo el material de alto y mediano peso molecular que se encuentra dentro del endospermo para facilitar los componentes necesarios para las levaduras (Ignat *et al.*, 2020). Estas enzimas pueden estar presentes en la chicha de jora.

Humicola grisea es un moho que proviene de la germinación de los granos de maíz ya que produce principalmente enzimas hidrolíticas como las hidrolasas y xilanasas, que actúan en el salvado de trigo y glucosa favoreciendo el proceso de fermentación (C. Gomes, 2020).

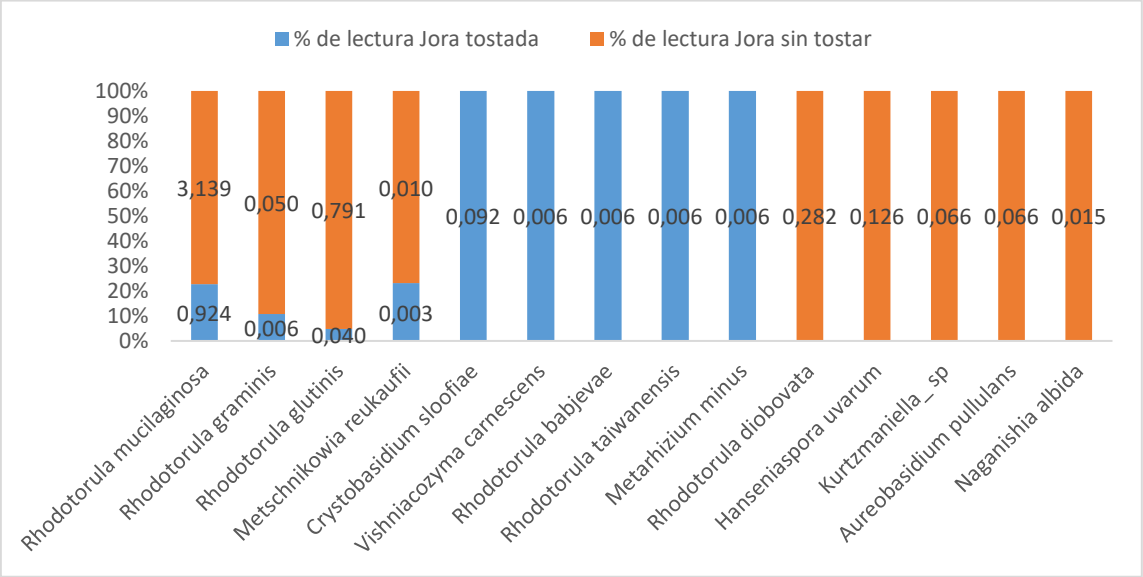
Kim *et al.*, (2020) enuncian que la germinación es un método eficaz para mejorar los valores nutricionales de los cereales, relacionados con la calidad del producto y la salud para el huésped. Los ácidos gamma aminobutíricos (GABA) y los ácidos fenólicos aumentan con el tiempo de germinación, convierten el producto en una fuente de antioxidantes, lo cual es preferido por los consumidores. La activación de las enzimas endógenas descompone los ingredientes de las bebidas en nutrientes que el intestino puede absorber, por ello beneficia a la digestión.

Las levaduras no convencionales naturales también se obtienen en la chicha de jora, son las responsables de la fermentación y a su vez pueden ser patógenos contaminantes

oportunistas para el producto. Entre estas levaduras se encuentran positivas, negativas. A continuación, se describen algunos de estos microorganismos.

Figura 9.

Levaduras no convencionales positivas identificadas en las chichas de jora



La chicha de jora tiene una gran variedad de microorganismos, entre ellas las levaduras no convencionales, bajo las conocidas se encuentran *Rhodotorula graminis*, *Rhodotorula taiwanensis*, *Naganishia albida* entre otras. Estas levaduras a pesar de tener poca participación en el producto porque el % de lectura es bajo al informe principal, están presentes y se reflejan en el aporte de sabor y olor, en conjunto con las levaduras principales, en la figura 9 se indica los microorganismos más representativos.

Ellis *et al.*, (2022) mencionan que las levaduras dominan la industria de las bebidas fermentadas, ya que este proceso depende de ellas para obtener buenos resultados. En el caso de la chicha de jora, una bebida ancestral además de tener levaduras probióticas tiene levaduras secundarias que sueltan gran parte de las características sensoriales por los diversos metabolitos secundarios que producen.

4.3.2 Bacterias

Para la identificación de bacterias se utilizó el primer 16S, este amplifica procariotas de los extremos emparejados, es decir de los pares de bases que fueron seleccionados para la lectura de la región. Además, por medio de Illumina con apoyo de NCBI y BLAST se pudo profundizar cada rango de la taxonomía. La secuencia de los cebadores permite conocer la taxonomía (Caporaso *et al.*, 2023).

La chicha elaborada con jora sin tostar presentó 36 468 lecturas del primer de ITS, de las cuales se identificaron 176 especies y la chicha elaborada con jora tostada presentó 37 729 lecturas ITS, identificándose 245 especies. Esto indica que el T2 contiene 69 especies más que el T1 ya que la jora tostada favorece a la fermentación y proporciona un mejor ambiente de crecimiento para el desarrollo de bacterias que confieren sabores y olores especiales al producto. En los dos tratamientos se presentan 55 bacterias comunes (anexo 10).

Para definir la taxonomía de las bacterias se cumple con el mismo parámetro, inicia con el reino que son las bacterias, el filo es *Firmicutes*, la clase es *Bacilli*, el orden es *Bacillales*, la familia *Bacillaceae*, el género es *Bacillus* y la especie es *Bacillus cereus* (AE016877), como se observa en la tabla 3, las bases de datos para la identificación taxonómica de las bacterias contienen más información que la de hongos. Los microorganismos presentes en la metagenómica siguen el mismo orden de taxonomía descrito anteriormente.

Tabla 3.

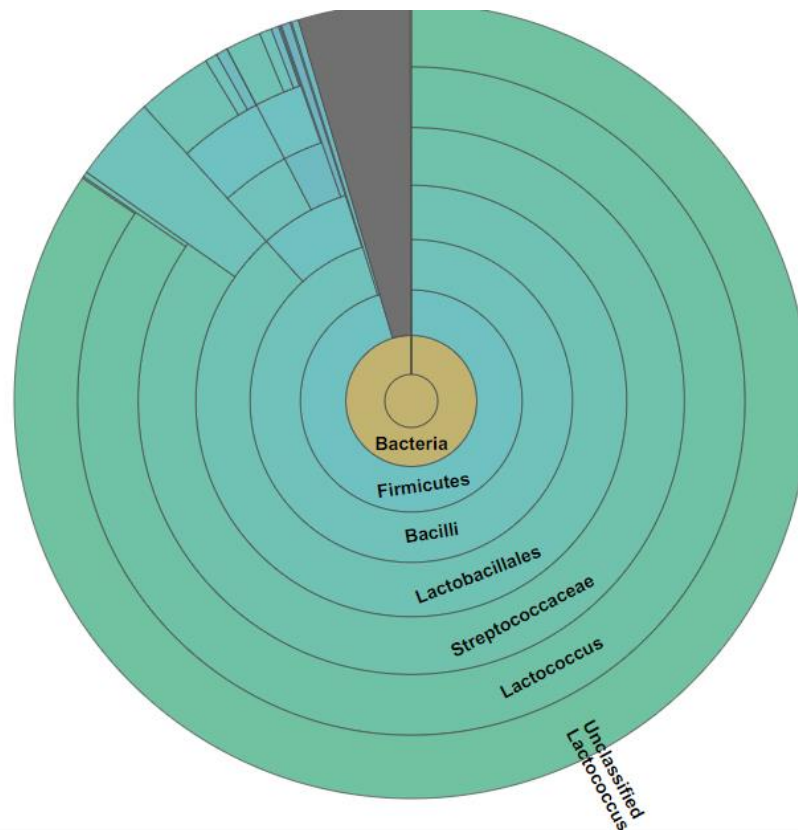
Taxonomía de las bacterias presentes en las chichas de jora que superan el 0,3 % de lectura en el análisis metagenómico

Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species
<i>Firmicutes</i> ***	<i>Bacilli</i> ***	<i>Bacillales</i> ***	<i>Bacillaceae_1</i> ***	<i>Bacillus</i> ***	<i>Bacillus_cereus</i> (AE016877) ***
<i>Firmicutes</i> ***	<i>Bacilli</i> ***	<i>Bacillales</i> ***	<i>Bacillales_Incertae_Sedis_XII</i> **	<i>Exiguobacterium</i> **	<i>Exiguobacterium_sibiricum</i> (CP001022) *
<i>Firmicutes</i> ***	<i>Bacilli</i> ***	<i>Lactobacillales</i> **	<i>Leuconostocaceae</i> **	<i>Leuconostoc</i> **	<i>Leuconostoc_lactis</i> (AB023968) ***
<i>Firmicutes</i> ***	<i>Bacilli</i> ***	<i>Bacillales</i> ***	<i>Bacillaceae_1</i> ***	<i>Bacillus</i> ***	<i>Bacillus_aryabhatai</i> (EF114313) *
<i>Firmicutes</i> ***	<i>Bacilli</i> ***	<i>Bacillales</i> ***	<i>Bacillales_Incertae_Sedis_XII</i> ***	<i>Exiguobacterium</i> ***	<i>Exiguobacterium_artemiae</i> (AM072763)*
<i>Proteobacteria</i> ***	<i>Gammaproteobacteria</i> ***	<i>Enterobacteriales</i> ***	<i>Enterobacteriaceae</i> ***	<i>Pantoea</i> ***	<i>Pantoea_vagans</i> (EF688012)***
<i>Proteobacteria</i> ***	<i>Gammaproteobacteria</i> ***	<i>Enterobacteriales</i> ***	<i>Enterobacteriaceae</i> ***	<i>Enterobacter</i> *	<i>Escherichia_vulneris</i> (NR_041927.1)***
<i>Proteobacteria</i> ***	<i>Gammaproteobacteria</i> ***	<i>Enterobacteriales</i> ***	<i>Enterobacteriaceae</i> ***	<i>Brenneria</i>	<i>Brenneria_alni</i> (NR_114705.1)***
<i>Proteobacteria</i> ***	<i>Gammaproteobacteria</i> ***	<i>Enterobacteriales</i> ***	<i>Enterobacteriaceae</i> ***	<i>Pantoea</i> ***	<i>Pantoea_dispersa</i> (NR_116797.1) **
<i>Proteobacteria</i> ***	<i>Gammaproteobacteria</i> ***	<i>Enterobacteriales</i> ***	<i>Enterobacteriaceae</i> ***	<i>Pantoea</i> ***	<i>Pantoea_septica</i> (EU216734) ***

Nota: * indican los niveles taxonómicos del T1, ** los niveles taxonómicos del T2 y *** es que comparten los niveles taxonómicos que se encuentran en los T1 y T2.

Figura 10.

Taxonomía de las bacterias identificadas en las chichas de jora



Cada una de estas bacterias presentes en la chicha de jora llevan un código que las identifica y que sirve para investigar toda la información existente tanto de su origen como de su código genético. Este número permite detallar la taxonomía de los microorganismos y facilitar su comprensión. En la figura 10 se detalla la taxonomía del microorganismo con mayor porcentaje de lectura que pertenece al género *Lactococcus*, acentuando claramente que todos los microorganismos en este caso pertenecen al reino de las bacterias.

Bassi *et al.*, (2020); Collazoz y Arbañil, (2022); Rebaza *et al.*, (2023) mencionan que la presencia de bacterias ácido lácticas (BAL) es fundamental en las fermentaciones de bebidas elaboradas a partir de materias primas vegetales. Estos estudios destacan a la chicha de jora como una fuente rica en prebióticos y probióticos, así como de compuestos con propiedades antibióticas, que aportan beneficios significativos para el microbiota intestinal. Sin embargo, también hay crecimiento de patógenos oportunistas que pueden comprometer tanto el proceso de fermentación como la calidad del producto.

Tran *et al.*, (2020) expresan que las bebidas tradicionales son consideradas por tener bajo contenido alcohólico, en este proceso se incluyen levaduras como *Torulaspora delbruecki* y bacterias del grupo acético como *Acetobacter Ferrireducens*, el cual estimula la producción de etanol. Las BAA oxidan la glucosa en ácido glucónico y el etanol en ácido acético por medio del metabolismo oxidativo, esto da como resultado una bebida equilibrada en agri dulce con una carbonatación natural.

Las bacterias están presentes en todos los alimentos, existen beneficiosas como los probióticos que favorecen al sistema digestivo y patógenas como las *Enterobacterias* que pueden causar daños comunes y severos al consumidor. En la tabla 4 se muestra las bacterias identificadas en la chicha de jora y que están presentes en los dos tratamientos, con diferente % de lectura.

Tabla 4.

Bacterias en común de los dos tratamientos de la chicha de jora

Bacterias	% de lectura	
	T1	T2
<i>Acidibacter_ferrireducens</i> (NR_126260.1)	0,016	0,022
<i>Aciditerrimonas_ferrireducens</i> (AB517669)	0,005	0,003
<i>Aciditerrimonas_sp.</i> (JN033775)	0,003	0,003
<i>Acidobacteriaceae_bacterium</i> (AM749787)	0,003	0,003
<i>Aeromonas_salmonicida</i> (AJ009859)	0,003	0,005
<i>Aquicella_lusitana</i> (AY359282)	0,003	0,003
<i>Bacillus_badius</i> (NR_115577.1)	0,003	0,005
<i>Bacillus_berkeleyi</i> (JN187498)	0,005	0,003
<i>Bacillus_cereus</i> (AE016877)	28.230	0,014
<i>Bacillus_coahuilensis</i> (EF014452)	0,005	0,003
<i>Bacillus_koreensis</i> (AY667496)	0,005	0,005
<i>Bacillus_luteolus</i> (GQ925365)	0,008	0,014
<i>Bacillus_manliponensis</i> (NR_125530.1)	0,003	0,005
<i>Bacillus_panaciterrae</i> (AB245380)	0,019	0,003
<i>Bacillus_psychrosaccharolyticus</i> (AB021195)	0,003	0,014
<i>Bacillus_sp.</i> (JX293295)	0,003	0,003
<i>bacterium_Ellin5102</i> (AY234519)	0,008	0,005
<i>Brenneria_alni</i> (NR_114705.1)	0,003	0,093
<i>Commensalibacter_intestini</i> (NR_116307.1)	0,005	0,003
<i>Diplorickettsia_massiliensis</i> (GQ857549)	0,005	0,005
<i>Endobacter_medicagoe</i> (JQ436923)	0,008	0,003
<i>Enterococcus_alcedinis</i> (JX948102)	0,008	0,003
<i>Erwinia_billingiae</i> (JN175337)	0,008	0,016
<i>Escherichia_vulneris</i> (NR_041927.1)	0,003	0,11

Bacterias	% de lectura	
	T1	T2
<i>Gaiella occulta</i> (JF423906)	0,003	0,005
<i>Geobacillus_jurassicus</i> (AY312404)	0,008	0,005
<i>Halochromatium_salexigens</i> (X98597)	0,003	0,003
<i>Lactococcus_fujiensis</i> (AB485959)	0,011	0,003
<i>Leuconostoc_lactis</i> (AB023968)	0,411	0,016
<i>Natronocella_acetinitrilica</i> (EF103128)	0,003	0,003
<i>Ornithinibacillus_sp.</i> (KC404830)	0,003	0,011
<i>Paenibacillus_brasilensis</i> (AF273740)	0,003	0,014
<i>Pantoea_agglomerans</i> (AJ233423)	0,008	0,016
<i>Pantoea_conspicua</i> (EU216737)	0,032	0,003
<i>Pantoea_dispersa</i> (NR_116797.1)	0,087	0,027
<i>Pantoea_septica</i> (EU216734)	2,218	0,008
<i>Pantoea_vagans</i> (EF688012)	0,069	4.818
<i>Pelotomaculum_propionicicum</i> (AB154390)	0,003	0,003
<i>Proteus_mirabilis</i> (DQ885256)	0,003	0,003
<i>Rhizobium_sp.</i> (KC904963)	0,003	0,003
<i>Rhodospirillaceae_bacterium</i> (KC625488)	0,003	0,005
<i>Roseimaritima_ulvae</i> (NR_146676.1)	0,003	0,003
<i>Ruminococcus_bromii</i> (L76600)	0,003	0,003
<i>Serratia_sp.</i> (KJ739885)	0,003	0,003
<i>Thiolamprovum_pedioforme</i> (Y12297)	0,003	0,025
<i>Tuberibacillus_calidus</i> (AB231786)	0,019	0,003
<i>uncultivated_soil</i> (AF013550)	0,003	0,003
<i>uncultured_Acidobacteria</i> (EF457379)	0,003	0,014
<i>uncultured_bacterium</i> (DQ404749)	0,003	0,003
<i>uncultured_eubacterium</i> (AJ292590)	0,005	0,005
<i>uncultured_soil</i> (AY289395)	0,005	0,003
<i>uncultured_Verrucomicrobia</i> (AY211073)	0,003	0,011
<i>Vulcanibacillus_modesticaldus</i> (AM050346)	0,005	0,011
<i>Xenorhabdus_ishibashii</i> (GQ149086)	0,003	0,003
<i>Zavarzinella_formosa</i> (AM162406)	0,003	0,003

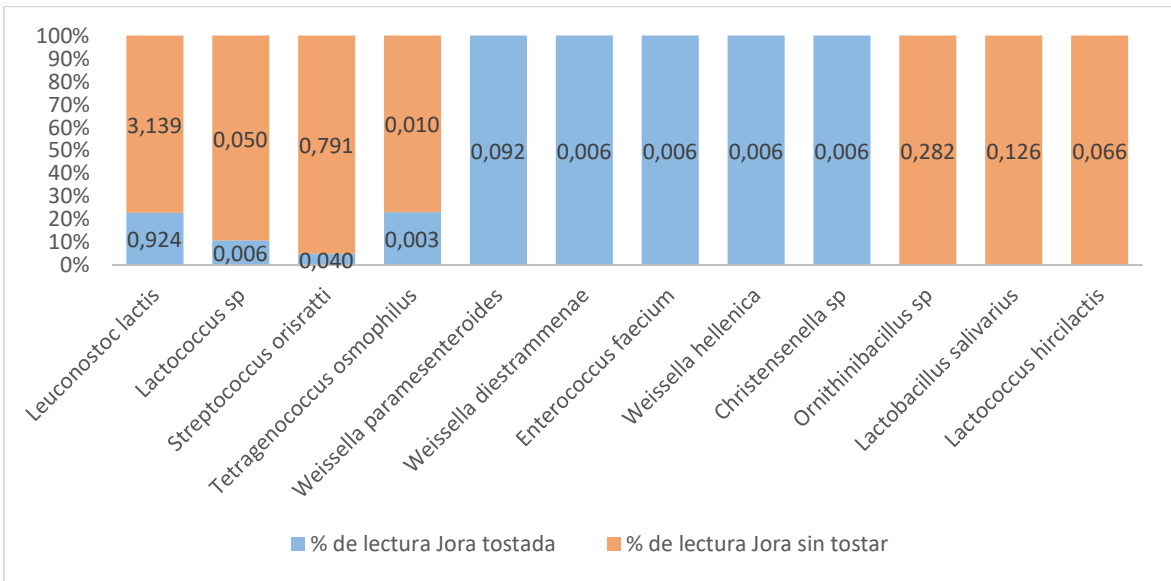
La población de las bacterias en los alimentos fermentados es cargada, pero no siempre están presentes los microorganismos positivos como *Leuconostoc lactis*, *Lactococcus fujiensis* que favorecen al producto y al consumidor, sino que también hay patógenos como *Pantoea vagans*, *Bacillus cereus*, *Escherichia vulneris* que dañan considerablemente al alimento (Chamorro *et al.*, 2021). En la tabla 4 se muestra algunos de las bacterias presentes en la chicha de jora de los dos tratamientos. Cabe mencionar que, en la presente investigación a pesar de mantener los procesos dentro de los parámetros de las Buenas Prácticas de Manufactura, se presentaron microorganismos patógenos, que pudieron estar presentes en la materia prima, cabe destacar que en T2 se encuentran en menor porcentaje,

por tanto, las condiciones del Tostado deben garantizar la eliminación de este tipo de microorganismos, pudiendo ser este un punto crítico de control. Para iniciar los procesos fermentativos no se utilizó ningún microorganismo iniciador, ya que el fin de esta investigación fue determinar los microorganismos responsables de la fermentación natural. Una vez que se han identificado los microorganismos de la fermentación y con la finalidad de garantizar la inocuidad del producto se pueden utilizar microorganismos iniciadores de la fermentación los cuales competirán con la presencia de posibles patógenos, eliminándolos del producto final.

Dentro de esta lista de bacterias se puede apreciar también las que mantienen una capacidad probiótica, es decir que convierte y sustenta al producto en una bebida funcional; en la figura 11 se detalla 12 especies identificadas como probióticas.

Figura 11.

Bacterias probióticas presentes en las chichas de jora



Las bacterias con capacidad probiótica se identifican en algunas especies como *Lactococcus sp*, *Streptococcus orisratti*, *Enterococcus faecium*, *Weissella hellenica*, *Lactobacillus salivarius* mismas que forman parte fundamental de la chicha de jora. Estas bacterias son las encargadas de mejorar el microbiota intestinal y a su vez potenciar la resistencia de los microorganismos que se encuentran en el intestino, en la figura 11 se detalla todas las bacterias probióticas encontradas en la chicha de jora por el análisis de metagenómica (anexo 11).

Ilango y Usha, (2021) afirman que los microorganismos fermentativos cambian de un producto a otro, es decir que las bebidas fermentadas no lácteas mantienen una fermentación tradicional y actualmente industrial. Los cereales contienen las bacterias ácido lácticas y ácido acéticas, muchas de las cuales tienen capacidad probiótica, como algunas levaduras y mohos que confieren propiedades sensoriales, beneficios para los huéspedes y mejoras favorables en la digestión. Lo que concuerda con las especies probióticas identificadas en la chicha de jora del T1 y T2.

4.4 Determinación de los árboles filogenéticos de los microorganismos probióticos en la chicha de jora

El análisis filogenético de los microorganismos es la representación gráfica de las secuencias de ADN y ARN para microorganismos por medio de cebadores como hongos ITS 4, levaduras ITS 86F y para bacterias ITS 16r en diferentes regiones. Este análisis sirve para conocer el origen y evolución de los microorganismos y la actualización de su nomenclatura, como cambiar de nombre en cuanto a su especie. A continuación, se presenta el árbol filogenético de las levaduras probióticas más representativas en la chicha de jora para los dos tratamientos.

En el tratamiento 1 (jora sin tostar) se logró identificar a *Candida intermedia* con un porcentaje de lectura del 43,38 %, en las siguientes figuras se muestra el árbol filogenético para la región ITS 86F: GTGAATCATCGAATCTTTGAA e ITS 4: TCCTCCGCTTATTGATATGC

Figura 12.

Árbol filogenético de Candida intermedia basado en secuencias de ITS 86F

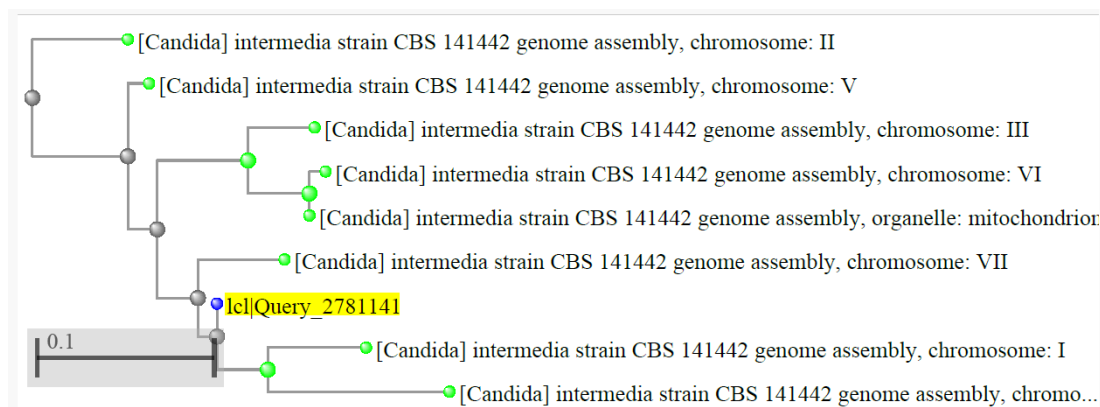
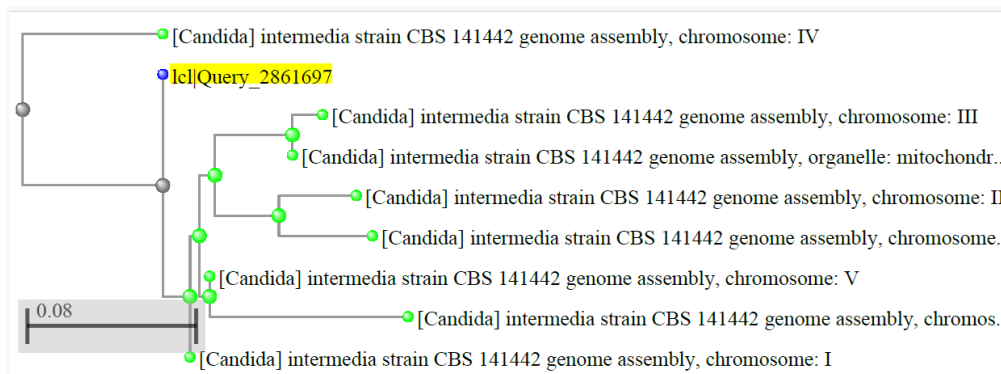


Figura 13.

Árbol filogenético de *Candida intermedia* basado en secuencia de ITS 4



Como se observa en la figura 12 y 13 la levadura en ciernes se pinta de verde, lo cual significa que es apropiada para la industria de alimentos. El verde muestra a la levadura como adecuada para la utilización dentro de las bebidas o productos fermentados y ciernes es que se encuentran en el medio ambiente. Ruíz, (2021) indica que la ubicación de los cromosomas es diferente a pesar de que se habla de la misma especie, esto es porque se hace referencia a la región que se tomó para el análisis metagenómico.

Chimba y Muso, (2020), expresan que *Candida intermedia* es una levadura con capacidad probiótica identificada en la chicha de jora sin tostar como uno de los principales microorganismos beneficiosos para el producto al momento de su fermentación y para el cliente cuando la consume. Este microorganismo está presente en esta investigación como uno de los principales en el T1, se relaciona con lo que dice el autor, puesto si está presente.

Piraine *et al.*, (2023) expresan que las levaduras no convencionales como lo es *Candida intermedia* mantiene una actividad prometedora dentro de la fermentación de productos como la cerveza y chicha de jora ya que adapta su crecimiento en pH, temperatura y ácidos orgánicos bajos, así mismo, esta levadura tiene la capacidad de adherirse al intestino lo cual mejora la digestión y combate contra patógenos ubicuos oportunistas.

Jimenez *et al.*, (2022) enuncian que en América latina existen un sin número de bebidas fermentadas controladas o naturales como es la chicha de jora que presentan diferentes especies de levaduras, entre ellas *Candida intermedia*, esta levadura no convencional mantiene una presencia abundante en el producto, mejora el valor nutricional, ayuda a

degradar el almidón, proporciona sabor, aumenta el nivel de vitamina B y produce aminoácidos libres.

De igual manera para el mismo tratamiento se identificó a *Meyerozyma guilliermondii* con un porcentaje de lectura del 0.474 %, no es el más representativo, pero al estar presente confiere facilidad en el inicio de la fermentación produciendo etanol, en las siguientes figuras se muestra el árbol filogenético para la región ITS 86F: GTGAATCATCGAATCTTTGAA y para ITS 4: TCCTCCGCTTATTGATATGC

Figura 14.

Árbol filogenético de *Meyerozyma guilliermondii* basado en secuencias de ITS 86F

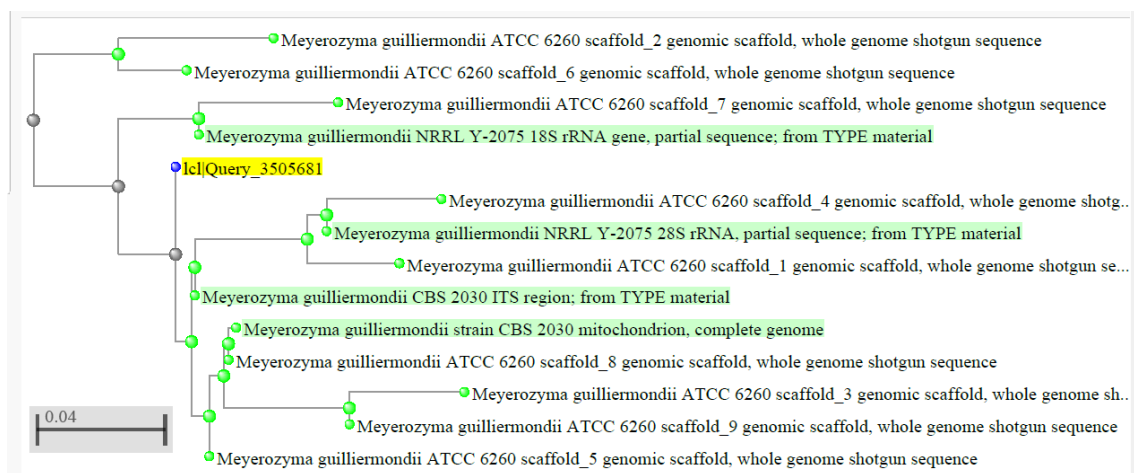
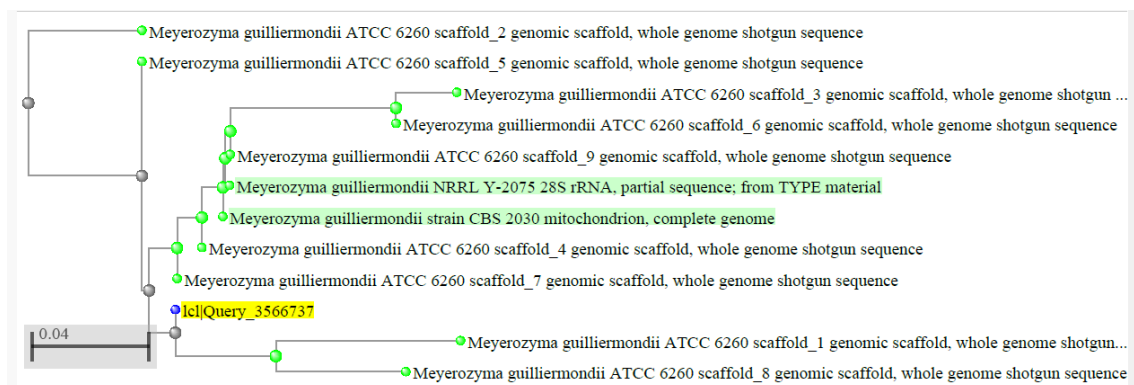


Figura 15.

Árbol filogenético de *Meyerozyma guilliermondii* basado en secuencias de ITS 4



En las figuras 14 y 15 se nota que *Meyerozyma guilliermondii* tiene relación entre especies que se generan en diferentes estaciones de genomas, siendo completos o por regiones. Al igual que *Candida intermedia* tienen influencia en la industria de alimentos ya que son levaduras en ciernes. Sin embargo, *Meyerozyma guilliermondii* NRRL Y-2075

y *Meyerozyma guilliermondii* strain CBS 2030 son las más representativas en los vinos, cervezas y bebidas fermentadas.

Yan *et al.*, (2021) dicen que *Meyerozyma guilliermondii* es una levadura muy rara que puede sobrevivir solo con carbono y energía. Este microorganismo es uno de los principales para la sobreproducción de riboflavina, permite la biotransformación de un edulcorante natural y saludable como es el xilitol. Mantiene potencialmente la producción de enzimas industriales entre las cuales están inulinasa y lipasa, por eso sirve como biocontrolador en las poscosechas de bacterias que causan daño a los cultivos. Además, se la considera como un huésped para metabolitos en la modificación genética.

Carbon *et al.*, (2023); Vergara *et al.*, (2023) expresan que las levaduras probióticas como es *Meyerozyma guilliermondii* pertenece a las no *Saccharomyces*, esto significa que a pesar de no ser de ese género pueden fermentar los productos ya que es una levadura ascomiceta con características y fisiología únicas que metabolizan o producen etanol. Están presentes en pan, vino, cerveza, chichas, kéfir, koumiss, aceitunas de mesa y quesos maduros.

En el tratamiento 2 (jora tostada) se identificó a *Wickerhamomyces anomalus* con un porcentaje de lectura del 0,589 %. En las siguientes figuras se muestra el árbol filogenético para la región ITS 86F: GTGAATCATCGAATCTTTGAA y para ITS 4: TCCTCCGCTTATTGATATGC

Figura 16.

Árbol filogenético de Wickerhamomyces anomalus basado en secuencias de ITS 86F

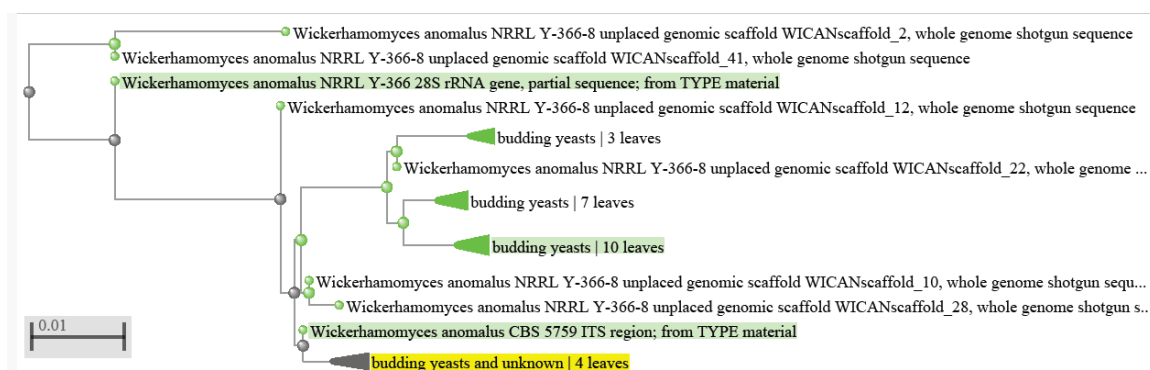
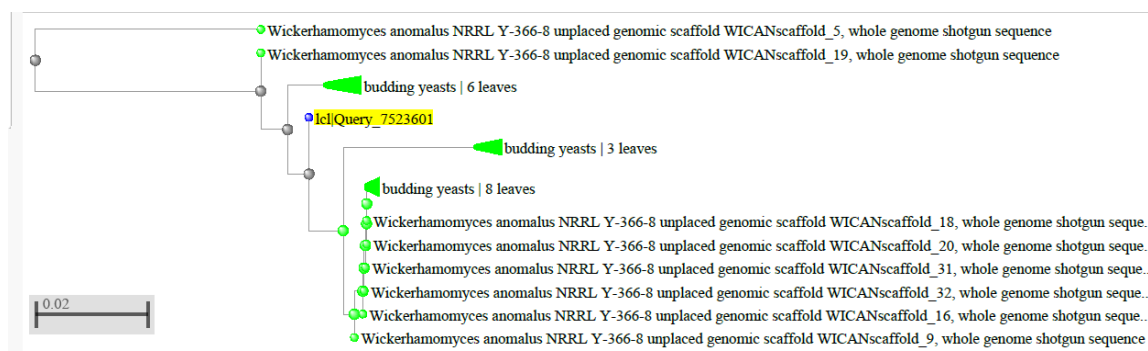


Figura 17.

Árbol filogenético de *Wickerhamomyces anomalus* basado en secuencias de ITS 4



La levadura no *Saccharomyces* como es la *Wickerhamomyces anomalus* está en auge en esta investigación dentro de los alimentos fermentados y sobre todo en los productos ancestrales como son la chicha de jora y el champús que manejan la misma materia prima (maíz) pero tienen diferentes procesos de elaboración (Grijalva *et al.*, 2020). En las figuras 16 y 17 se muestra esta especie y la relación que tiene con otras situaciones de la misma especie, no obstante, de una región a otra aumenta el número de niveles de levaduras en ciernes. En la región 86F se observa 4 niveles más que son levaduras que existen pero que la base de datos no las reconoce.

Padilla *et al.*, (2018) expresan que este probiótico pertenece a las primeras fermentaciones alcohólicas y que al final son las que aportan calidad al producto. Esta levadura ubicua es importante en la industria de los fermentos ya que posee características fisiológicas y metabólicas interesantes y explotables que sirven como un agente de biocontrol. Junto con *Saccharomyces cerevisiae* realizan una fermentación mixta que ayuda a mejorar la complejidad del aroma de las bebidas.

Fathiah *et al.*, (2023) dicen que *Wickerhamomyces anomalus* es una de las levaduras identificadas por la tolerancia al estrés térmico, osmótico y oxidativo de la fermentación en bebidas tradicionales a pesar de que se reduce la cantidad de etanol. Utilizan pequeños sustratos de azúcar como fuente de energía, pero puede adaptarse a otras variedades de azúcares como glucosa, xilosa, maltosa y sacarosa.

De igual manera en el mismo tratamiento se identificó a *Torulaspora delbrueckii* con un porcentaje de lectura del 0,055 %. En las siguientes figuras se muestra el árbol filogenético para la región ITS 86F: GTGAATCATCGAATCTTTGAA y para ITS 4: TCCTCCGCTTATTGATATGC

Figura 18.

Árbol filogenético de *Torulaspora delbrueckii* basado en secuencias de ITS 86F

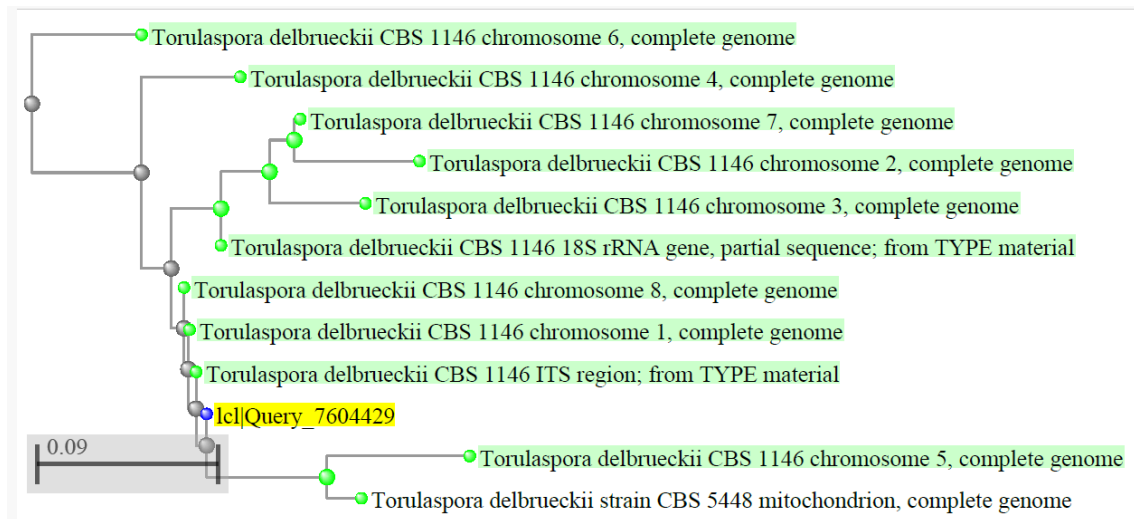
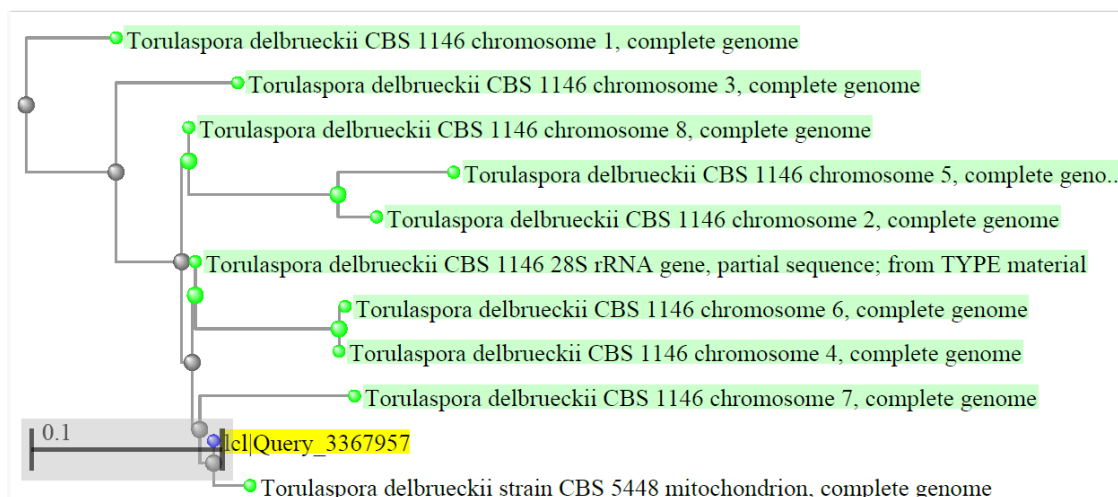


Figura 19.

Árbol filogenético de *Torulaspora delbrueckii* basado en secuencias de ITS 4



Torulaspora delbrueckii es otra de las levaduras con capacidad probiótica que tiene la chicha de jora; a pesar de que su porcentaje de lectura es bajo mantiene una representación potencial para este producto ya que su fermentación se adapta al tratamiento ofreciendo mayor sabor y aroma (Raungrusmee *et al.*, 2022). En la figura 18 y 19 se puede apreciar su árbol filogenético y la relación que tiene en diferentes ubicaciones de cromosomas, como todas las levaduras no convencionales anteriormente mencionadas esta también se la utiliza en la industria de los vinos y productos fermentados y es una de las que mejores reseñas tiene.

Balmaseda *et al.*, (2024) indican que la potencialidad de *Torulaspora delbrueckii* sirve como un cultivo iniciador para las fermentaciones alcohólicas. Esta levadura no *Saccharomyces* aumenta compuestos estimulantes, modifica sustancias aromáticas, ácidos orgánicos, y atributos sensoriales porque modula químicamente la fermentación maloláctica y disminuye compuestos tóxicos que afectan a las bebidas convirtiéndolas en apetecibles.

Las levaduras no convencionales están presentes en productos ancestrales como la chicha de jora y el champús que son originarios de países latinoamericanos como Ecuador, Perú, Bolivia. Son bebidas muy apetecibles y con sabores especiales, ya que *Torulaspora delbrueckii* es un microorganismo de los más relevantes porque destaca características aromáticas que se forman por la tolerancia al estrés fermentativo (Grijalva *et al.*, 2021).

Por otro lado, dentro de los análisis de metagenómica se determinó también bacterias para ver la presencia de BAL, BAA y Bifidobacterias. En el tratamiento 1 y 2 se identificó a *Leuconostoc lactis* con un porcentaje de lectura del 0,016 % y 0,411 % respectivamente. En las siguientes figuras se muestra el árbol filogenético para la región ITS 16S 341F: CCTACGGGNGGCWGCAG y 805R: GACTACHVGGGTATCTAATCC

Figura 20.

Árbol filogenético de *Leuconostoc lactis* basado en secuencias de ITS 341F

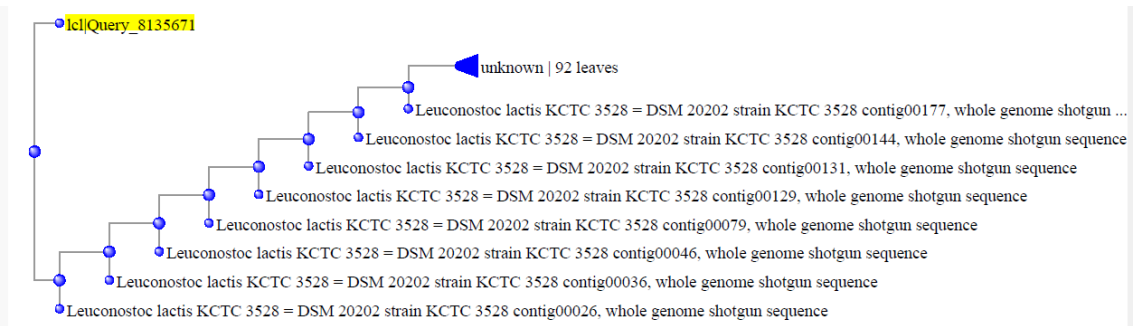
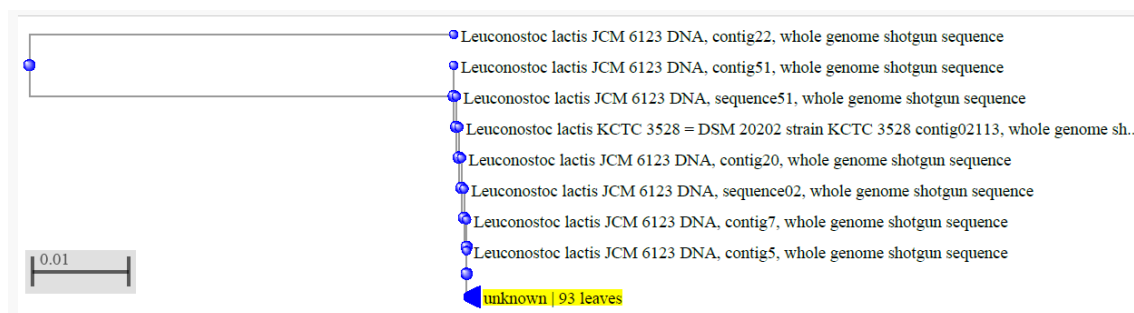


Figura 21.

Árbol filogenético de *Leuconostoc lactis* basado en secuencias de ITS 805R



Leuconostoc lactis es una de las BAL más conocidas en la industria de alimentos, por tener una capacidad probiótica alta y beneficiosa para los consumidores, además de producir compuestos de aroma y CO₂ para iniciar el desarrollo fúngico posterior de los alimentos fermentados (Valero *et al.*, 2020). Como se muestra en las figuras 20 y 21 esta bacteria a pesar de su gran aporte dentro de la industria aún mantiene vacíos, pues el árbol filogenético no identifica 93 niveles de la especie.

Guerra *et al.*, (2022); Tello, (2016) indican que las BAL son microorganismos que forman cocos que metabolizan los carbohidratos en ácido láctico. De las más conocidas se encuentran *Lactococcus*, *Streptococcus* y *Leuconostoc*, que tienen propiedades probióticas. La especie *Leuconostoc lactis* es heterofermentativa porque produce ácido láctico y otras sustancias de acuerdo con la temperatura óptima de crecimiento es decir entre 35 y 37 °C y una acidez de 0.8 %.

Jimenez *et al.*, (2022) afirman que los alimentos fermentados son importantes en las dietas de casi todo el mundo, ya que durante este proceso se produce una serie de metabolitos como consecuencia de los microorganismos responsables que mejoran la textura, color, sabor, olor y otros atributos sensoriales. Además, microbios BAL o BAA liberan grandes cantidades de compuestos antimicrobianos convirtiendo a los productos en seguros y de calidad pues inhiben el crecimiento de patógenos oportunistas.

Raungrusmee *et al.*, (2022) mencionan que la innovación de productos no lácteos hace referencia a las legumbres y cereales que son la fuente adecuada de minerales, vitaminas, proteínas, carbohidratos y oligosacáridos que mejoran a la salud de los consumidores, así mismo, estas materias primas son las óptimas para conseguir una buena base de fermentación. Entre las cepas importantes para producir estos alimentos con fuente de

probióticos se encuentran las *Leuconostoc lactis*, que sirven para crear la fermentación y exportar características únicas a los productos finales.

Para el tratamiento 2 se identificó a 12 bacterias probióticas más de los cuales se tomó en cuenta solo a los que mayor lectura tuvieron en el análisis de metagenómica, este microorganismo es el género *Lactococcus* sp con un porcentaje de lectura del 0,040 %. En las siguientes figuras se muestra el árbol filogenético para la región ITS 16S 341F: CCTACGGGNGGCWGCAG y 805R: GACTACHVGGGTATCTAATCC.

Figura 22.

Árbol filogenético de *Lactococcus* sp basado en secuencias de ITS 341F

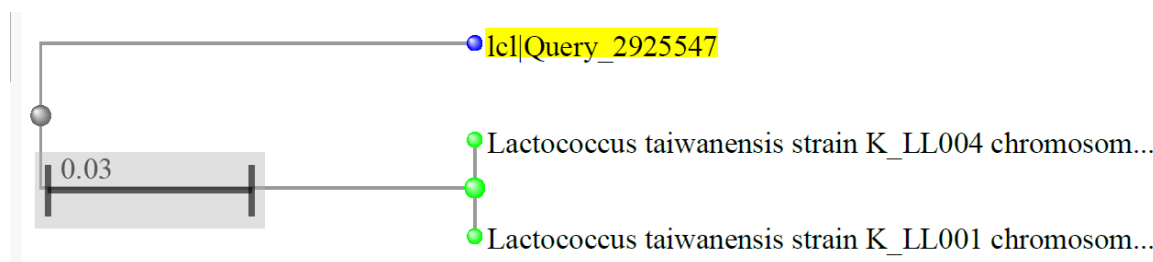
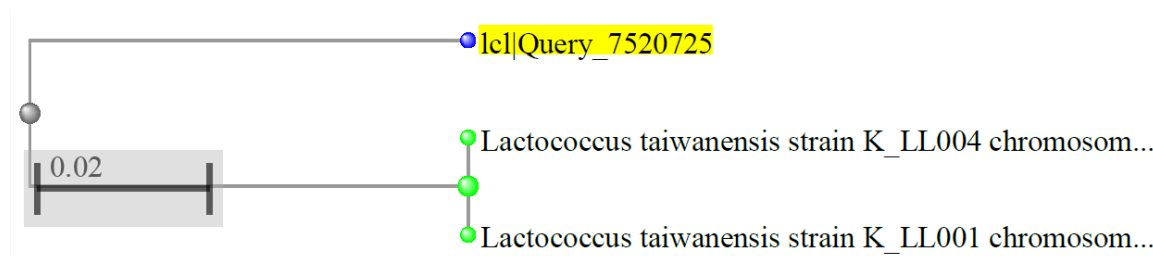


Figura 23.

Árbol filogenético de *Lactococcus* sp basado en secuencias de ITS 805R



El género *Lactococcus* dentro de la industria alimentaria tiene una importancia considerable ya que al ser BAL fermentan a los productos y sustraen sustancias deliciosas que hacen a los alimentos apetecibles (Cuesy, 2021). En las figuras 22 y 23 se muestra el árbol filogenético de una de las especies de este género, como es *Lactococcus taiwanensis* y se considera probióticos beneficiosos para los consumidores. Esta bacteria a diferencia de las demás es igual para las dos regiones como también se torna verde, lo cual significa que es apta para el uso en los alimentos.

Cruz *et al.*, (2023) afirman que las bacterias ácido lácticas se reconocen por la fermentación que realizan, son microorganismos claves en potenciar sabor y aroma. En Colombia se utiliza para la fermentación de café lo que convierte a un producto de alta

calidad, con este tipo de estudios se ha logrado identificar a más de 50 bacterias, de las cuales 28 son autóctonas de los suelos, ambiente, variedad de plantas e incluso la región donde se cultiva. Investigaciones de este tipo son útiles para conocer la microbiota presente en los productos alimenticios y su procedencia.

Li *et al.*, (2021) mencionan que *Lactococcus taiwanensis* ha sido reconocida como una de las bacterias cuya actividad probiótica mejora las respuestas inmunitarias, codifica péptidos antimicrobianos como es la bacteriocina, el azol (péptido lineal) y el lantipéptido. Se la considera como la mejor candidata con actividad antibacteriana e inmunomoduladora ya que aporta información sobre otras especies.

Además de identificar bacterias con potencial probiótico, también se detectaron patógenos oportunistas. Entre los más representativos y dañinos presentes en este producto destaca *Bacillus cereus*, un patógeno responsable de dos tipos de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA): el síndrome diarreico y el emético (S. A. Kim *et al.*, 2020). La chicha de jora tuvo la presencia de esta bacteria en el T1 y T2 en diferente porcentaje de lectura, se considera que una concentración de 10^4 esporas o células por gramo de alimento puede suponer un riesgo para la salud (ASCSA, 2011). En las figuras 24 y 25 se observa el árbol filogenético de este microorganismo, para la región ITS 16S 341F: CCTACGGGNGGCWGCAG y 805R: GACTACHVGGGTATCTAATCC.

Figura 24.

Árbol filogenético de *Bacillus cereus* basado en secuencias de ITS 341F

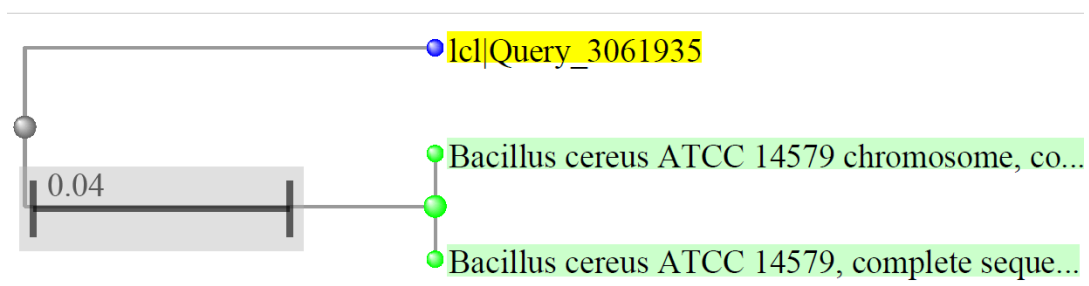
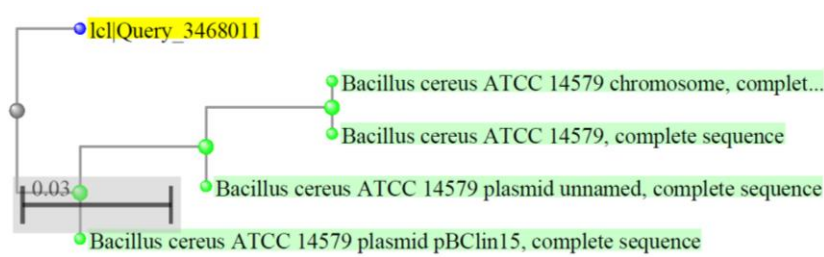


Figura 25.

Árbol filogenético de *Bacillus cereus* basado en secuencias de ITS 805R



La ubicación de los cromosomas se denomina citogenética, y se basa en crear mapas con patrones distintivos de bandas moleculares en la secuencia de los bloques de ADN. Los pares de genes que se utilizaron en los árboles filogenéticos de *Bacillus cereus* fueron extraídos de manera estandarizada porque se utilizaron primers específicos para la lectura de las bacterias presentes en la chicha de jora (MedlinePlus, 2021).

Takahashi *et al.*, (2021) menciona que *Bacillus cereus* es una bacteria patógena que forma esporas y son transmitidas por los alimentos que se encuentran en el suelo como las verduras y en otros alimentos que son crudos o procesados. Las endosporas que posee comprometen a una variedad de condiciones desfavorables porque tienen alta tolerancia a la cocción.

Las nuevas tendencias en hábitos de consumo de alimentos y bebidas fermentadas tienen un riesgo emergente que involucra el desarrollo de toxinas peligrosas para los consumidores, *Bacillus cereus* es una bacteria ubicua extendida en el ambiente en especial en la tierra y se presenta en alimentos como la leche, verduras, cereales, harinas, especias y hierbas (Ortuño, 2020).

Robles, (2024) indica que *Bacillus cereus* utiliza la esporulación como forma de supervivencia ante situaciones de estrés como cambios de pH, temperatura y escasez de nutrientes, por lo que implica la contaminación de los alimentos. Este patógeno oportunista causa intoxicación alimentaria que provoca infecciones oculares, neumonía progresiva e infecciones que destruyen al sistema nervioso provocando incluso la muerte.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- El uso de la jora sin tostar y tostada en la elaboración de la chicha influye en las características de color, parámetros físicos, químicos y tipo de microorganismos presentes en el producto final.
- La chicha de jora es una bebida con un contenido en promedio del 10 % de alcohol, por lo que su consumo excesivo puede generar mareo, tiene un pH ácido y los °Brix disminuyen en función de los días de fermentación del producto. El mejor tratamiento fue el T2, dentro de los análisis microbiológicos y fisicoquímicos convirtiendo al producto en estable y seguro para su consumo.
- Mediante el análisis metagenómico se identificó que en la chicha elaborada con jora tostada (T2) existe 59 especies de mohos-levaduras y 245 especies de bacterias, valores superiores a los encontrados en la chicha elaborada con jora sin tostar (T1). Esto se debe a que en el proceso de tostado los carbohidratos se hidrolizan en azúcares que facilitan el metabolismo y el crecimiento de los microorganismos.
- La chicha elaborada con jora tostada presentó 5 especies de levaduras probióticas y 12 especies de bacterias probióticas, sumándole al producto valor nutricional.
- En el presente estudio se identificó que en la fermentación natural pueden presentarse microorganismos patógenos, cuya presencia se puede eliminar con el tostado de la jora y la inoculación de un cultivo iniciador en el proceso de fermentación de la chicha de jora, el cual debe contener los microorganismos que fueron identificados en el presente estudio.
- La esquematización de árboles filogenéticos de bacterias y levaduras probióticas permitió conocer la interacción que tienen entre las mismas especies con diferentes ubicaciones de cromosomas de los microorganismos y comprender que ciertos géneros pueden o no ser para la industria de alimentos. Como *Lactococcus taiwanensis* que es una bacteria que se utiliza en la industria láctea para potenciar las características sensoriales.
- Existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos 1 y 2 en los grados de alcohol, esto se debe al proceso de tostado de la jora, además se deduce que la chicha elaborada con jora tostada presentó un color más agradable y apetecible para los consumidores.

5.2 Recomendaciones

- La implementación de protocolos estandarizados para el proceso de fermentación de la chicha de jora puede asegurar la consistencia en la calidad del producto, tanto en términos de sabor como de seguridad microbiológica.
- Usar microorganismos iniciadores y ajustar de variables como la temperatura y tiempo del tostado de la jora, el pH, tamaño del grano y la duración de la fermentación para maximizar la producción de compuestos deseables, como ácidos orgánicos y etanol, y minimizar la presencia de microorganismos no deseados.
- La aplicación de técnicas metagenómicas más avanzadas, como la secuenciación de nueva generación (NGS) y el análisis de metatranscriptomas, permitirá obtener una comprensión más profunda de la dinámica de los microorganismos durante la fermentación.
- Desarrollar cultivos de probióticos específicos que puedan ser añadidos durante la fermentación para mejorar el perfil nutricional y sensorial de la chicha de jora.
- Comparar el microbiota de la chicha de jora producida en diferentes regiones del Ecuador, para identificar semejanzas y diferencias en las poblaciones microbianas y sus efectos sobre las propiedades del producto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar, L. (2021). Efecto De Microorganismos Eficientes Comerciales Y Microorganismos Nativos Provenientes De La Chicha De Jora En El Proceso De Compostaje [Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga]. [Http://Repositorio.Unsch.Edu.Pe/Handle/Unsch/4494](http://Repositorio.Unsch.Edu.Pe/Handle/Unsch/4494)
- Andrade, H., Lapo, J., Reina, A., & Baer, N. (2020). Estandarización De Pcr Con Primers Para La Región Its En Adn Vegetal [Universidad De Las Fuerzas Armadas]. [Https://Redisd.Org/Index.Php/Es/Resumen-Recibidos-Mt1/770-Estandarizacion-De-Pcr-Con-Primers-Para-La-Region-Its-En-Adn-Vegetal-2](https://Redisd.Org/Index.Php/Es/Resumen-Recibidos-Mt1/770-Estandarizacion-De-Pcr-Con-Primers-Para-La-Region-Its-En-Adn-Vegetal-2)
- Arcsa. (2021). Normativa Sanitaria Para Control De Suplementos Alimenticios. Arcsa-De-0, 1–37. [Https://Www.Controlsanitario.Gob.Ec/Wp-Content/Uploads/Downloads/2022/01/Arcsa-De-028-2016-Ymih_Normativa-Sanitaria-Para-Control-De-Suplementos-Alimenticios..Pdf](https://Www.Controlsanitario.Gob.Ec/Wp-Content/Uploads/Downloads/2022/01/Arcsa-De-028-2016-Ymih_Normativa-Sanitaria-Para-Control-De-Suplementos-Alimenticios..Pdf)
- Agència Catalana de Seguretat Alimentaria (ACSA). 2011. ACSA Brief “*Bacillus cereus*”. http://www.gencat.cat/salut/acsa/html/es/dir3226/acsabrief06-2011bacillus_cereus_es.pdf
- Arias, J., & Covinos, M. (2021). Diseño Y Metodología De La Investigación (Primera Ed). [Https://Www.Researchgate.Net/Publication/352157132%0d](https://Www.Researchgate.Net/Publication/352157132%0d)
- Ayhan, K., Coşansu, S., Orhan-Yanikan, E., & Gülseren, G. (2021). Advance Methods For The Qualitative And Quantitative Determination Of Microorganisms. *Microchemical Journal*, 166, 106188. [Https://Doi.Org/10.1016/J.Microc.2021.106188](https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106188)
- Bala, A., Jain, J., Kumari, A., & Singh, B. (2014). Production Of An Extracellular Phytase From A Thermophilic Mould *Humicola Nigrescens* In Solid State Fermentation And Its Application In Dephytinization. *Biocatalysis And Agricultural Biotechnology*, 3(4), 259–264. [Https://Doi.Org/10.1016/J.Bcab.2014.07.002](https://doi.org/10.1016/j.bcab.2014.07.002)
- Balmaseda, A., Rozès, N., Bordons, A., & Reguant, C. (2024). The Use Of *Torulaspora Delbrueckii* To Improve Malolactic Fermentation. *Microbial Biotechnology*, 17(1).

<https://doi.org/10.1111/1751-7915.14302>

- Balseca, E. (2021). Análisis Filogenético De *Komagataeibacter Xylinus* K2g30=Umcc2756 Para La Producción De Biofilms A Partir De Suero Lácteo [Universidad Técnica De Ambato]. <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/32072>
- Barbosa, F., Carvajal, E., Guamán, M., Portero, P., Matoso, A., Daher, L., Oliveira, F., & Rosa, C. (2018). *Saccharomyces Cerevisiae* Populations And Other Yeasts Associated With Indigenous Beers (Chicha) Of Ecuador. *Brazilian Journal Of Microbiology*, 49(4), 808–815. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.01.002>
- Bassi, D., Orrù, L., Cabanillas, J., Cocconcelli, P. S., & Fontana, C. (2020). Peruvian Chicha: A Focus On The Microbial Populations Of This Ancient Maize-Based Fermented Beverage. *Microorganisms*, 8(1), 93. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010093>
- Billington, C., Kingsbury, J. M., & Rivas, L. (2022). Metagenomics Approaches For Improving Food Safety: A Review. *Journal Of Food Protection*, 85(3), 448–464. <https://doi.org/10.4315/jfp-21-301>
- Black, C., Drossman, D., Talley, N., Ford, A., & Ruddy, J. (2020). Functional Gastrointestinal Disorders: Advances In Understanding And Management. 396, 1664–1674. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32115-](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32115-)
- Bustamante, A. (2019). Influencia De La Temperatura De Fermentación En Las Características Fisicoquímicas De La Chicha De Jora, Evaluados En Dos Variedades De Germinados De Maíz (*Zea Mays*) Inia 602 Y Marginal 28 [Universidad Nacional De Cajamarca]. [https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14074/3150/Influencia De La Temperatura De Fermentación En Las Características Fisicoquímicas De La Chicha D.Pdf?Sequence=1&Isallowed=Y](https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14074/3150/Influencia%20De%20La%20Temperatura%20De%20Fermentaci%C3%B3n%20En%20Las%20Caracter%C3%ADsticas%20Fisicoqu%C3%ADmicas%20De%20La%20Chicha%20D.Pdf?Sequence=1&Isallowed=Y)
- Camacho, L. (2019). Evaluación Del Efecto De La Ozonización En La Vida Útil De La Chicha De Jora Envasada [Universidad Nacional Micaela Bastidas De Apurímac]. <http://repositorio.unamba.edu.pe/handle/unamba/901>

- Camargo, D. (2020). Perfil Bioativo E Potenciais Aplicações De Resíduos De Laranja E Uva Isolados E Fermentados [Universidade Estadual Paulista (Unesp)]. <https://doi.org/10.17616/R31n39>
- Canales, C. (2023). Estudio De Prefactibilidad Para La Producción Y Comercialiación De Una Bebida Alcohólica Ready To Drink A Base De Cerveza Negra Y Chicha De Jora En Lima [Pontificia Universidad Católica Del Perú]. <http://hdl.handle.net/20.500.12404/25926>
- Caporaso, G., Ackermann, G., Apprill, A., Bauer, M., Berg, D., Jason, L., Fierer, N., Fraser, L., Fuhrman, J., Gilbert, J., Gormley, N., Humphrey, G., Huntley, J., Jansson, J., Knight, R., Lauber, C., Lozupone, C., McNally, S., Needham, D., ... Weber, L. (2023). Emp 16s Illumina Amplicon Protocol. 2. <https://doi.org/10.17504/protocols.io.Kqdg3dzzl25z/V2>
- Carbon, H., Aplin, J., Jiang, G., Gibney, P., & Edwards, C. (2023). Fate Of Carbon In Synthetic Media Fermentations Containing *Metschnikowia Pulcherrima* Or *Meyerozyma Guilliermondii* In The Presence And Absence Of *Saccharomyces Cerevisiae*. *Food Microbiology*, 114, 104308. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2023.104308>
- Cce. (2008). Soberanías Alimentarias, Agricultura Sustentable Y Reconocimiento De Saberes Ancestrales. <https://portal.corteconstitucional.gob.ec/ficharelatoria.aspx?numdocumento=22-17-in/22#:~:text=Con Responsabilidad Intergeneracional,-,Art.,De Interés Nacional Debidamente Fundamentado...>
- Chamorro, S., Anchiraico, J., Aguirre, J., & Canchanya, D. (2021). Design Of An Automated System For The Production Of Chicha De Jora. 2021 International Conference On Computers And Automation (Compauto), 100–103. <https://doi.org/10.1109/Compauto54408.2021.00025>
- Chasiloa, V. (2021). Evaluación Reológica De La Chia De Jora Estabilizada Con Un Aditivo Natural Mucílago De Linaza (*Linum Usitatissimum*) [Universidad Técnica De Cotopaxi]. <https://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/8158/1/Pc-002079.pdf>

- Chaves, C., Rossi, C., Maggio, F., Paparella, A., & Serio, A. (2020). Changes Occurring In Spontaneous Maize Fermentation: An Overview. *Fermentation*, 6(1), 36. <https://doi.org/10.3390/Fermentation6010036>
- Chávez, B., & Domínguez, V. (2023). Selección De Levaduras “Nativas” Productoras De Etanol A Partir De Chicha De Jora Del Sector Santa Rosa Del Distrito De Moche, La Libertad- Perú. Universidad Nacional De Trujillo.
- Chimba, E., & Muso, P. (2020). Evaluación Y Caracterización De Ácidos Orgánicos Presentes En Tres Bebidas Ancestrales De Yuca (*Manihot Esculenta* Crantz) Fermentadas Con Kéfir Y Levadura (*Saccharomyces Cerevisiae*) [Universidad Técnica De Cotopaxi]. <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/7002>
- Codex Alimentarius. (2005). Norma General Para Zumos (Jugos) Y Néctares De Frutas Cxs 247-2005. 1–21. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253a%252f%252fworkspace.fao.org%252fsites%252fcodex%252fstandards%252fcxs%2b247-2005%252fcxs_247s.pdf
- Codex Alimentarius. (2017). Norma Para El Kimchi Cxs 223-2001. 1–4. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253a%252f%252fworkspace.fao.org%252fsites%252fcodex%252fstandards%252fcxs%2b223-2001%252fcxs_223s.pdf
- Collazoz, G., & Arbañil, C. (2022). Análisis Del Perfil Microbiológico De La Materia Prima Y De La Chicha De Jora Durante El Proceso De Fermentación. <http://hdl.handle.net/10757/661156>
- Condori, P. (2020). Niveles De Investigación. 1–10. <https://www.academica.org/cporfirio/17>
- Correa, A., & Cuenca, M. (2022). Evaluation Of Lactic Acid Fermentation In A Dairy And Non-Dairy Beverage Using Two Commercial Starter Cultures. *Vitae*, 29(2). <https://doi.org/10.17533/Udea.Vitae.V29n2a347447>
- Coughlan, L. M., Cotter, P. D., Hill, C., & Alvarez-Ordóñez, A. (2015). Biotechnological Applications Of Functional Metagenomics In The Food And Pharmaceutical Industries. *Frontiers In Microbiology*, 6.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00672>

Cruz, R., Piraneque, N., & Aguirre, S. (2023). Lactic Acid Bacteria Diversity And Dynamics In Colombian Coffee Fermentation. *Coffee Science*, 18, 1–11. <https://doi.org/10.25186/V18i.2141>

Cuenca, R. (2022, September). Probióticos Y Covid-19. 2022. <https://farmacosalud.com/probioticos-y-covid-19/>

Cuesy, M. (2021). Caracterización Del Microbioma Bacteriano En Base A La Región 16s Rdn Y Su Asociación Con Patógenos De Importancia Médica En Garrapatas De Hospederos Silvestres Del Norte De La República Mexicana [Universidad Autónoma De Nuevo León]. <http://eprints.uanl.mx/21300/1/1080314904.pdf>

Da Silva Vale, A., Venturim, B. C., Da Silva Rocha, A. R. F., Martin, J. G. P., Maske, B. L., Balla, G., De Dea Lindner, J., Soccol, C. R., & De Melo Pereira, G. V. (2023). Exploring Microbial Diversity Of Non-Dairy Fermented Beverages With A Focus On Functional Probiotic Microorganisms. *Fermentation*, 9(6), 496. <https://doi.org/10.3390/fermentation9060496>

Dahiya, D., & Nigam, P. S. (2022). Nutrition And Health Through The Use Of Probiotic Strains In Fermentation To Produce Non-Dairy Functional Beverage Products Supporting Gut Microbiota. *Foods*, 11(18), 2760. <https://doi.org/10.3390/foods11182760>

Deka, P., Mehetre, G. T., Lalnunmawii, E., Upadhyaya, K., Singh, G., Hashem, A., Al-Arjani, A.-B. F., Fathi Abd_Allah, E., & Singh, B. P. (2021). Metagenomic Analysis Of Bacterial Diversity In Traditional Fermented Foods Reveals Food-Specific Dominance Of Specific Bacterial Taxa. *Fermentation*, 7(3), 167. <https://doi.org/10.3390/fermentation7030167>

Del Caso, S. (2021). Implementación De Código Para Realizar Alineamientos De Pares De Bases, Alineamientos Múltiples Y Árboles Filogenéticos Adaptados A Las Necesidades De Análisis De Exopol [Universidad San Jorge]. [https://repositorio.usj.es/bitstream/123456789/696/1/02. Memoria - Silvia_Delcaso.pdf](https://repositorio.usj.es/bitstream/123456789/696/1/02_Memoria_Silvia_Delcaso.pdf)

- Días, S. (2024). Tradición, Cultura, Lucha Y Fuerza Ancestral Del Festival De La Chicha (Bogotá, Colombia). <https://Dspace.Unila.Edu.Br/Handle/123456789/8005>
- Dinuzzo, E. (2020). What Is Chicha Morada? A Purple Corn Drink With Health Benefits. <https://Www.Thehealthy.Com/Food/Recipes/What-Is-Chicha-Morada/>
- Dion, M., Oechslin, F., & Moineau, S. (2020). Phage Diversity, Genomics And Phylogeny. *Nature Reviews Microbiology*, 18(3), 125–138. <https://doi.org/10.1038/S41579-019-0311-5>
- Drake, A. (2016). Chicha In Ecuador. <https://Notyouraverageamerican.Com/Chicha-In-Ecuador/>
- Ellis, D. J., Kerr, E. D., Schenk, G., & Schulz, B. L. (2022). Metabolomics Of Non-Saccharomyces Yeasts In Fermented Beverages. *Beverages*, 8(3), 41. <https://doi.org/10.3390/Beverages8030041>
- Espinoza, J. (2019). Malteado Y Fermentación De Máiz Para La Obtención De Whisky Artesanal [Instituto Politécnico Nacional]. <http://Tesis.Ipn.Mx/Handle/123456789/26541>
- Eurolab. (2023). Alcohol % Volumen (Picnómetro, Densitómetro, Alcoholimetría). <https://Www.Laboratuvar.Com/Es/Gida-Analizleri/Kimyasal-Analizler/Alkol-Hacmen-Piknometre-Dansimetre-Alkolimetre-Alcholyzer>
- Fathiah, M., Hartono, F., Astuti, R., Listiyowati, S., & Meryandini, A. (2023). Bioethanol Production From Non-Conventional Yeasts *Wickerhamomyces Anomalus* (*Pichia Anomala*) And Detection Of *Adh1* Gene. *Hayati Journal Of Biosciences*, 31(2), 221–228. <https://doi.org/10.4308/Hjb.31.2.221-228>
- Flores, D., & Rodríguez, J. (2020). Bioinformatica- Calidad Y Alineamiento De Secuencias De Adn Y Generación De Árboles Filogenéticos En Base Al Gene *Nif H* (Fijación Biológica De Nitrógeno). 20. https://D1wqtxts1xzle7.Cloudfront.Net/65313911/Calidad_Y_Alineamiento_De_Secuencias_De_Adn-Libre.Pdf?1609526795=&Response-Content-Disposition=Inline%3b+Filename%3duniversidad_Nacional_De_Moquegua_Faculta.Pdf&Expires=1708452242&Signature=Hdbcc0r-6-Sdgz~J~Z

- Frontela, C. (2007). Efecto De La Adición De Fitasa Sobre La Biodisponibilidad Mineral In Vitro En Papillas Infantiles [Universidad De Murcia]. <https://Www.Tdx.Cat/Bitstream/Handle/10803/11062/Frontelasasete.Pdf?Sequence=1>
- García, I. (2023). Desarrollo Y Caracterización De Un Proceso De Fermentación De Maíz (Zea Mays) Germinado Para La Obtención De Una Bebida Con Características Probióticas [Universidad Autónoma De Nuevo León]. <http://Eprints.Uanl.Mx/25546/1/1080328893.Pdf>
- Gomes, C. (2020). Análise Do Efeito Do Tratamento Fotodinâmico Mediado Por Nanoemulsão Contendo Cloreto De Alumínio-Ftalocianina Sobre A Produção De Hidrolases De *Humicola Grisea* Var. *Thermoidea* E *Penicillium Echinulatum* [Universidade De Brasília]. <http://Repositorio2.Unb.Br/Jspui/Handle/10482/39380>
- Gomes, I. A., Venâncio, A., Lima, J. P., & Freitas-Silva, O. (2021). Fruit-Based Non-Dairy Beverage: A New Approach For Probiotics. *Advances In Biological Chemistry*, 11(06), 302–330. <https://doi.org/10.4236/abc.2021.116021>
- Grijalva, N., Aranda, A., & Matallana, E. (2020). Evaluation Of Yeasts From Ecuadorian Chicha By Their Performance As Starters For Alcoholic Fermentations In The Food Industry. *International Journal Of Food Microbiology*, 317, 108462. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108462>
- Grijalva, N., Krogerus, K., Nikulin, J., Magalhães, F., Aranda, A., Matallana, E., & Gibson, B. (2021). Potential Application Of Yeasts From Ecuadorian Chichas In Controlled Beer And Chicha Production. *Food Microbiology*, 98, 103644. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103644>
- Guerra, L., Cevallos, J., Weckx, S., & Ruales, J. (2022). Traditional Fermented Foods From Ecuador: A Review With A Focus On Microbial Diversity. *Foods*, 11(13), 1854. <https://doi.org/10.3390/foods11131854>
- Guerra, L. S., Cevallos, J. M., Weckx, S., & Ruales, J. (2022). Traditional Fermented Foods From Ecuador: A Review With A Focus On Microbial Diversity. *Foods*, 11(13), 1854. <https://doi.org/10.3390/foods11131854>

- Guitierrez, K., & Jurado, R. (2020). Evaluación De La Actividad Quinolítica De Aislados Microbianos Nativos Frente A La Broca Del Café. Universidad Técnica Del Norte.
- Guzmán-López, O., Ricaño-Rodríguez, C., Luis-Yong, D., & Ricaño-Rodríguez, J. (2023). Ncbi: Generalidades Del Repositorio Y Breve Descripción De Recursos Aplicables Al Estudio De La Fitogenética. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 46(1), 63. <https://doi.org/10.35196/Rfm.2023.1.63>
- Hernández, Y. (2023). Efecto Del Tostado De Maltas En La Composición Volátil Y Propiedades Sensoriales De Cervezas De Maíz Rojo Y Cebada.
- Ignat, M. V., Salanță, L. C., Pop, O. L., Pop, C. R., Tofană, M., Mudura, E., Coldea, T. E., Borșa, A., & Pasqualone, A. (2020). Current Functionality And Potential Improvements Of Non-Alcoholic Fermented Cereal Beverages. *Foods*, 9(8), 1031. <https://doi.org/10.3390/Foods9081031>
- Ilango, S., & Usha, A. (2021). Probiotic Microorganisms From Non-Dairy Traditional Fermented Foods. *Trends In Food Science & Technology*, 118, 617–638. <https://doi.org/10.1016/J.Tifs.2021.05.034>
- Inen. (2011). Nte. Inen 2395. Leches Fermentadas. Requisitos. 2, 12. <https://ia802909.us.archive.org/32/items/Ec.Nte.2395.2011/Ec.Nte.2395.2011.Pdf>
- Inen 184. (2014). Jugos, Concentrados, Néctares, Bebidas De Frutas, Vegetales Y Refrescos. 1–7. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/reglamentos/rte-184.pdf>
- Inen 2322. (2002). Bebidas Alcohólicas. Cerveza. Determinación De Alcohol. Nte Inen 2322. 22. <https://archive.org/details/Ec.Nte.2322.2002/Mode/1up?View=Theater>
- Irkin, R. (2019). Natural Fermented Beverages. In *Natural Beverages* (Pp. 399–425). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816689-5.00014-6>
- Ivanišová, E., Meňhartová, K., Terentjeva, M., Harangozo, L., Kántor, A., & Kačániová, M. (2020). The Evaluation Of Chemical, Antioxidant, Antimicrobial And Sensory Properties Of Kombucha Tea Beverage. *Journal Of Food Science And Technology*,

- 57(5), 1840–1846. <https://doi.org/10.1007/S13197-019-04217-3>
- Jaramillo, J. (2022). La Chicha Y La Cerveza: Técnicas De Elaboración. <https://asocerv.beer/noticia/articulo/la-chicha-y-la-cerveza-tecnicas-de-elaboracion>
- Jimenez, M., O'donovan, C., Ullivarri, M., & Cotter, P. (2022). Microorganisms Present In Artisanal Fermented Food From South America. *Frontiers In Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.941866>
- Kim, B., Park, S., Youn, G.-J., Kwak, Y., & Kim, M. (2020). Characteristics Of Sunsik, A Cereal-Based Ready-To-Drink Korean Beverage, With Added Germinated Wheat And Herbal Plant Extract. *Foods*, 9(11), 1654. <https://doi.org/10.3390/Foods9111654>
- Kim, S. A., Park, H. J., Cho, T. J., & Rhee, M. S. (2020). Toxic Potential Of *Bacillus Cereus* Isolated From Fermented Alcoholic Beverages. *Food Research International*, 137, 109361. <https://doi.org/10.1016/J.Foodres.2020.109361>
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). Mega X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Across Computing Platforms. *Molecular Biology And Evolution*, 35(6), 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/Molbev/Msy096>
- Leech, J., Cabrera-Rubio, R., Walsh, A. M., Macori, G., Walsh, C. J., Barton, W., Finnegan, L., Crispie, F., O'sullivan, O., Claesson, M. J., & Cotter, P. D. (2020). Fermented-Food Metagenomics Reveals Substrate-Associated Differences In Taxonomy And Health-Associated And Antibiotic Resistance Determinants. *Msystems*, 5(6). <https://doi.org/10.1128/Msystems.00522-20>
- Leech, J., Cabrera, R., Walsh, A. M., Macori, G., Walsh, C. J., Barton, W., Finnegan, L., Crispie, F., O'sullivan, O., Claesson, M. J., & Cotter, P. D. (2020). Fermented-Food Metagenomics Reveals Substrate-Associated Differences In Taxonomy And Health-Associated And Antibiotic Resistance Determinants. *Msystems*, 5(6). <https://doi.org/10.1128/Msystems.00522-20>
- Ley Orgánica De La Salud. (2006). Registro Oficial N° 423 Suplemento. 16. <https://faolex.fao.org/docs/pdf/ecu154951.pdf>

- Li, X., Li, L., Li, Y., Zhou, R., Li, B., Gu, X., Fu, S., Jin, B., Zuo, X., & Li, Y. (2021). Complete Genome Sequencing Of Peyer's Patches-Derived *Lactobacillus Taiwanensis* Clg01, A Potential Probiotic With Antibacterial And Immunomodulatory Activity. *Bmc Microbiology*, 21(1), 68. <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02127-z>
- Libretexts. (2022). Análisis Filogenético. [https://espanol.libretexts.org/Biologia/Microbiología/Libro%3a_Microbiología_\(Sin_Límites\)/8%3a_Evolución_Microbiana%2c_Filogenia_Y_Diversidad/8.05%3a_a_Métodos_De_Clasificación_E_Identificación_De_Microorganismos/8.5c%3a_Análisis_Filogenético](https://espanol.libretexts.org/Biologia/Microbiología/Libro%3a_Microbiología_(Sin_Límites)/8%3a_Evolución_Microbiana%2c_Filogenia_Y_Diversidad/8.05%3a_a_Métodos_De_Clasificación_E_Identificación_De_Microorganismos/8.5c%3a_Análisis_Filogenético)
- Mancabelli, L., Milani, C., Lugli, G. A., Fontana, F., Turrone, F., Van Sinderen, D., & Ventura, M. (2020). The Impact Of Primer Design On Amplicon-Based Metagenomic Profiling Accuracy: Detailed Insights Into Bifidobacterial Community Structure. *Microorganisms*, 8(1), 131. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010131>
- Marajofsky, L. (2022). El Boom De Los Probióticos: El Gran Negocio De Las Bebidas Fermentadas Para Consumo Masivo. <https://www.forbes.com.ec/negocios/el-boom-probioticos-gran-negocio-bebidas-fermentadas-consumo-masivo-n24066>
- Marsh, A. J., Hill, C., Ross, R. P., & Cotter, P. D. (2014). Fermented Beverages With Health-Promoting Potential: Past And Future Perspectives. *Trends In Food Science & Technology*, 38(2), 113–124. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.05.002>
- Medlineplus. (2021). ¿Cómo Los Genetistas Indican La Ubicación De Un Gen? <https://medlineplus.gov/spanish/genetica/entender/comofuncionangen/genubicacion/>
- Mishra, G., & Panda, B. (2022). Cereal Based Fermented Foods And Non-Alcohol Beverages. In *Functional Cereals And Cereal Foods* (Pp. 189–213). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-031-05611-6_8
- Moreira, D., Ormaza, G., & Quiroz, K. (2020). Malteado Y Variedad De Maíz En Las Características Fisicoquímicas Y Sensoriales En Una Bebida Refrescante. *Revista*

- Científica Multidisciplinaria Arbitrada “Yachasun,” 4(7 Edición Especial Diciembre), 120–133. <https://doi.org/10.46296/Yc.V4i7edespdic.0078>
- Mugits, J. (2018). The Persistence Of Chicha. American Indian, 19(2018). <https://www.americanindianmagazine.org/story/persistence-chicha>
- Muhammad, A., Bakhtawar, M., Przemyslaw, L., Qayyum, M., Muhammad, F., Syeda, Z., Shazia, Y., & Rana, A. (2021). Nutritional And Health Potential Of Probiotics: A Review. Applied Sciences (Switzerland), 11(23). <https://doi.org/10.3390/app112311204>
- Navas, M. (2014). Filogenia Y Tipos De Microorganismos. <https://es.slideshare.net/Marianavassilvestre/T2-Filogenia-Y-Tipos-De-Microorganismos>
- Navgire, G. S., Goel, N., Sawhney, G., Sharma, M., Kaushik, P., Mohanta, Y. K., Mohanta, T. K., & Al-Harrasi, A. (2022). Analysis And Interpretation Of Metagenomics Data: An Approach. Biological Procedures Online, 24(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s12575-022-00179-7>
- Onu. (2015). Objetivos De Desarrollo Sostenible. <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/objetivos-de-desarrollo-sostenible/>
- Ortuño, R. (2020). Bacillus Cereus Y Su Papel En Las Intoxicaciones Alimentarias. Ainia. <https://www.ainia.com/ainia-news/bacillus-cereus-papel-intoxicaciones-alimentarias/>
- Pacheco, K., Martínez, C., Saucedo, G., Rodríguez, V., Durán, L., & Pérez, M. (2024). Características De Microorganismos Utilizados Como Probióticos Tradicionales Y Nuevos Probióticos. 10.17533/Udea.Acbi/V45n119a05
- Padilla, B., Gil, J., & Manzanares, P. (2018). Challenges Of The Non-Conventional Yeast Wickerhamomyces Anomalus In Winemaking. Fermentation, 4(3), 68. <https://doi.org/10.3390/fermentation4030068>
- Peru.Travel. (2020). Chicha De Jora: El Néctar De Los Incas.

<https://www.peru.travel/es/masperu/chicha-de-jora-el-nectar-de-los-incas>

Pineda, J., Pineda, C., & Chávez, L. (2023). Desarrollo De Un Proceso A Escala Piloto Para La Producción De Chicha De Jora A Partir De Maíz (Zea Mays). 9. <https://cebaecuador.org/wp-content/uploads/2024/01/5-Pineda-J-2022-Chicha-De-Maiz-Piloto.pdf>

Piraine, R., Retzlaf, G., Gonçalves, V., Cunha, R., Conrad, N., Bochman, M. L., & Leite, F. (2023). Brewing And Probiotic Potential Activity Of Wild Yeasts *Hanseniaspora Uvarum* Pit001, *Pichia Kluyveri* Lar001 And *Candida Intermedia* Orq001. *European Food Research And Technology*, 249(1), 133–148. <https://doi.org/10.1007/s00217-022-04139-z>

Raungrusmee, S., Kumar, S., & Anal, A. (2022). Probiotic Cereal-Based Food And Beverages, Their Production And Health Benefits. In *Probiotics, Prebiotics And Synbiotics* (Pp. 186–212). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119702160.ch9>

Real Academia Española. (2024). Chicha. <https://dle.rae.es/chicha>

Rebaza, T. D., Silva, K., Sabater, C., Delgado, S., Montes, N. D., & Ruas, P. (2023). “Masato De Yuca” And “Chicha De Siete Semillas” Two Traditional Vegetable Fermented Beverages From Peru As Source For The Isolation Of Potential Probiotic Bacteria. *Probiotics And Antimicrobial Proteins*, 15(2), 300–311. <https://doi.org/10.1007/s12602-021-09836-x>

Rebaza, T., Montes, N., Fernández, M., Delgado, S., & Ruas, P. (2023). Microbiological And Physical-Chemical Characteristics Of The Peruvian Fermented Beverage “Chicha De Siete Semillas”: Towards The Selection Of Strains With Acidifying Properties. *International Journal Of Food Microbiology*, 406, 110353. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110353>

Revilla, D. (2021). *El Método De Investigación Documental*. Escuela De Posgrado.

Rivera, J. (2019). *Diferentes Chichas De Jora (Cerveza Andina) Provenientes De La Región Norte Del Ecuador* Joselyn Paola Rivera Torres. Universidad San Francisco De Quito Usfq, 1–59. <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/8546/1/143741.pdf>

- Robles, M. (2024). *Bacillus Spp.* En *La Producción De Alimentos* [Universidad De Jaén].
<https://hdl.handle.net/10953.1/24278>
- Rodrigo, J. (2016). Test De Friedman.
https://cienciadedatos.net/documentos/21_Friedman_Test
- Rodríguez, J., & García, P. (2017). Capacidad Probiótica De Bacterias Lácticas Aisladas De Chicha De Molle. *Revista De La Sociedad Química Del Perú*, 83(4), 391–402.
<https://doi.org/10.37761/rsqp.v83i4.212>
- Ross, M. (2022). What's The Best Beverage For Boosting Your Gut Health? We Asked An Rd. <https://www.wellandgood.com/fermented-drinks/>
- Ruíz, C. (2021). Análisis Microbiológico Del Agroecosistema De Melón (*Cucumis Melo* L.) E Implementación De Tecnología Para Secuenciación Metagenómica [Universidad Autónoma De Nuevo León].
<http://eprints.uanl.mx/22903/1/1080315670.pdf>
- Salminen, S., Collado, M. C., Endo, A., Hill, C., Lebeer, S., Quigley, E. M. M., Sanders, M. E., Shamir, R., Swann, J. R., Szajewska, H., & Vinderola, G. (2022). The International Scientific Association Of Probiotics And Prebiotics (Isapp) Consensus Statement On The Definition And Scope Of Postbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 19(8), 551–551. <https://doi.org/10.1038/s41575-022-00628-4>
- Santander, A., & Castro, J. (2024). Aislamiento De Bacterias Ácido Lácticas Con Potencial Probiótico De Alimentos Fermentados Típicos De México: Una Revisión. *Pädi Boletín Científico De Ciencias Básicas E Ingenierías Del Icbi*, 11(22), 59–68.
<https://doi.org/10.29057/icbi.v11i22.11072>
- Segovia, J. J., Valentin, L. S., Herrera, O., Fuertes, C. M., Pari, J. B., Loyola, E., Almeida, J. S., Kong, J. F., Melgar, E. J., Alshahrani, M. M., & Mahmud, S. (2022). Chemical Characterization, Antioxidant, And Antihyperglycemic Capacity Of Ferulated Arabinoxylan Extracted From “Chicha De Jora” Bagasse: An Ancestral Fermented Beverage From *Zea Mays* L. *Journal Of Food Quality*, 2022, 1–16.
<https://doi.org/10.1155/2022/4015886>

- Setta, M. C., Matemu, A., & Mbega, E. R. (2020). Potential Of Probiotics From Fermented Cereal-Based Beverages In Improving Health Of Poor People In Africa. *Journal Of Food Science And Technology*, 57(11), 3935–3946. <https://doi.org/10.1007/S13197-020-04432-3>
- Soleq. (2016). Chicha: Cerveza Antigua Del Ecuador. <https://soleq.travel/es/cultura-ecuatoriana/chicha-cerveza-antigua-del-ecuador#:~:Text=Chicha Es Una Bebida Nativa,De La Regi3n En Ecuador>.
- Sornchuer, P., Saninjuk, K., Prathaphan, P., Tiengtip, R., & Wattanaphansak, S. (2022). Antimicrobial Susceptibility Profile And Whole-Genome Analysis Of A Strong Biofilm-Forming *Bacillus* Sp. B87 Strain Isolated From Food. *Microorganisms*, 10(2), 252. <https://doi.org/10.3390/Microorganisms10020252>
- Takahashi, M., Kita, Y., Minakami, R., & Mukai, N. (2021). Growth Characteristics Of *Bacillus Cereus* In Sake And During Its Manufacture. *Journal Of Food Protection*, 84(2), 213–219. <https://doi.org/10.4315/Jfp-20-196>
- Tang, Z., Zhao, Z., Wu, X., Lin, W., Qin, Y., Chen, H., Wan, Y., Zhou, C., Bu, T., Chen, H., & Xiao, Y. (2023). A Review On Fruit And Vegetable Fermented Beverage-Benefits Of Microbes And Beneficial Effects. *Food Reviews International*, 39(8), 4835–4872. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.2024222>
- Tello, L. (2016). Caracterización Genética Mediante Adn De Las Cepas Productoras De Co2 Para Acelerar La Formación De “Ojos” En El Queso Tipo Gouda [Universidad Del Azuay]. <https://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/6221/1/12433.pdf>
- Tofalo, R., Fusco, V., Böhnlein, C., Kabisch, J., Logrieco, A. F., Habermann, D., Cho, G.-S., Benomar, N., Abriouel, H., Schmidt-Heydt, M., Neve, H., Bockelmann, W., & Franz, C. M. A. P. (2020). The Life And Times Of Yeasts In Traditional Food Fermentations. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 60(18), 3103–3132. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1677553>
- Tran, T., Grandvalet, C., Verdier, F., Martin, A., Alexandre, H., & Tournier-Maréchal, R. (2020). Microbial Dynamics Between Yeasts And Acetic Acid Bacteria In Kombucha: Impacts On The Chemical Composition Of The Beverage. *Foods*, 9(7), 963. <https://doi.org/10.3390/Foods9070963>

- Ucak, S., Yurt, M. N. Z., Tasbasi, B. B., Acar, E. E., Altunbas, O., Soyucok, A., Aydin, A., Ozalp, V. C., & Sudagidan, M. (2022). Identification Of Bacterial Communities Of Fermented Cereal Beverage Boza By Metagenomic Analysis. *Lwt*, 153, 112465. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112465>
- Únete Comunidad. (2017). Lanzamiento General De Unite Fasta. <https://doi.org/10.15156/Bio/587475>
- U.S. Food and Drug Administration (FDA). 2009. Bad Bug Book: Introduction Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook. *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. <http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/FoodborneIllness/FoodborneIllnessFoodbornePathogensNaturalToxins>
- Valero, E., Cerdá, D., Pastor, J., & Frutos, M. (2020). Non-Dairy Fermented Beverages As Potential Carriers To Ensure Probiotics, Prebiotics, And Bioactive Compounds Arrival To The Gut And Their Health Benefits. *Nutrients*, 12(6), 1666. <https://doi.org/10.3390/nu12061666>
- Vargas-Yana, D., Aguilar-Morón, B., Pezo-Torres, N., Shetty, K., & Ranilla, L. G. (2020). Ancestral Peruvian Ethnic Fermented Beverage “Chicha” Based On Purple Corn (*Zea Mays* L.): Unraveling The Health-Relevant Functional Benefits. *Journal Of Ethnic Foods*, 7(1), 35. <https://doi.org/10.1186/S42779-020-00063-3>
- Vargas, D., Aguilar, B., Pezo, N., Shetty, K., & Ranilla, L. (2020). Ancestral Peruvian Ethnic Fermented Beverage “Chicha” Based On Purple Corn (*Zea Mays* L.): Unraveling The Health-Relevant Functional Benefits. *Journal Of Ethnic Foods*, 7(1), 35. <https://doi.org/10.1186/S42779-020-00063-3>
- Velásquez, J., Zambrano, J., Peñaherrera, D., Sangoquiza, C., Cartagena, Y., Villacrés, E., Garcés, S., Ortiz, R., León, J., Campaña, D., López, V., Asaquibay, C., Nieto, M., Pintado, P., Yáñez, C., Racines, M., & Sanmartín G. (2021). Guía Para La Producción Sustentable De Maíz En La Sierra Ecuatoriana.
- Vergara, S., Leiva, M., Mestre, M., Vazquez, F., Mancha, P., Nally, M., & Maturano, Y. (2023). Bioprospecting Of The Probiotic Potential Of Yeasts Isolated From A Wine Environment. *Fungal Genetics And Biology*, 164, 103767.

<https://doi.org/10.1016/J.Fgb.2022.103767>

- Villarreal, S. L., Montañez, J. C., Aguilar, C. N., & Rodriguez, R. (2018). Metagenomics Of Traditional Beverages. In *Advances In Biotechnology For Food Industry* (Pp. 301–326). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811443-8.00011-6>
- Wang, Q., Garrity, G. M., Tiedje, J. M., & Cole, J. R. (2007). Naïve Bayesian Classifier For Rapid Assignment Of Rrna Sequences Into The New Bacterial Taxonomy. *Applied And Environmental Microbiology*, 73(16), 5261–5267. <https://doi.org/10.1128/Aem.00062-07>
- Wilkin, D. (2016). The Polymerase Chain Reaction- Advanced. <https://flexbooks.ck12.org/cbook/ck-12-advanced-biology/section/9.3/primary/lesson/the-polymerase-chain-reaction-advanced-bio-adv/>
- Willa, V., Nyambo, D. G., & Sam, A. (2021). Brix And Alcohol Content Monitoring Using Wireless Sensor Network. *International Journal Of Advances In Scientific Research And Engineering*, 07(07). <https://doi.org/10.31695/Ijasre.2021.34048>
- Xiong, Y., Zhang, P., Warner, R. D., Shen, S., & Fang, Z. (2022). Cereal Grain-Based Functional Beverages: From Cereal Grain Bioactive Phytochemicals To Beverage Processing Technologies, Health Benefits And Product Features. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 62(9), 2404–2431. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1853037>
- Yan, W., Gao, H., Qian, X., Jiang, Y., Zhou, J., Dong, W., Xin, F., Zhang, W., & Jiang, M. (2021). Biotechnological Applications Of The Non-Conventional Yeast *Meyerozyma Guilliermondii*. *Biotechnology Advances*, 46, 107674. <https://doi.org/10.1016/J.Biotechadv.2020.107674>
- Yossa, N., Bell, R., Tallent, S., Brown, E., Binet, R., & Hammack, T. (2022). Genomic Characterization Of *Bacillus Cereus* Ssensu Stricto 3a Es Isolated From Eye Shadow Cosmetic Products. *Bmc Microbiology*, 22(1), 240. <https://doi.org/10.1186/S12866-022-02652-5>
- Zhang, Z., Han, Z., Wu, Y., Jiang, S., Ma, C., Zhang, Y., & Zhang, J. (2021).

Metagenomics Assembled Genome Scale Analysis Revealed The Microbial Diversity And Genetic Polymorphism Of *Lactiplantibacillus Plantarum* In Traditional Fermented Foods Of Hainan, China. *Food Research International*, 150, 110785. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110785>

Žuntar, I., Petric, Z., Bursać Kovačević, D., & Putnik, P. (2020). Safety Of Probiotics: Functional Fruit Beverages And Nutraceuticals. *Foods*, 9(7), 947. <https://doi.org/10.3390/foods9070947>

ANEXOS

Anexo 1. ANOVA

Tabla 5.

Resultados del diseño experimental 2x3

	BRIX		pH		ALCOHOL	
	F	P	F	P	F	P
Días	7.734	0.003765	566	<2e-16	9746.80	< 2e-16
Estado de la Jora	2.554.764	< 2e-16	8139	<2e-16	601.68	2.77e-15
Días*Estado de la jora	10.605	0.000906	2076	<2e-16	24.82	6.69e-06

Anexo 2. Interacción de los posibles cruces entre factores y niveles en los grados Brix

Tabla 6.

Interacción de los tratamientos en los °Brix

°Brix	
Factores y niveles	p valor
Día 6: Tostado- Día 4: Tostado	0.9998574>NS (0,05)
Día 2: Sin tostar- Día6: Sin tostar	0.5417215>NS (0,05)

Anexo 3. Interacción de los posibles cruces entre factores y niveles en el pH

Tabla 7.

Interacción entre los tratamientos en el pH

pH	
Factores y niveles	p valor
Día 6: Tostado- Día 4: Tostado	0.9875590>NS (0,05)
Día 2: Tostado- Día 2: Sin tostar	0.9999948>NS (0,05)

Anexo 4. Interacción de los posibles cruces entre factores y niveles en los grados de alcohol

Tabla 8.

Interacción de los tratamientos en los grados de alcohol

Grado de alcohol	
Factores y niveles	p valor
Día 2: Tostado- Día2: Sin tostar	8,00E-07
Día 4: Sin tostar-Día 2: Sin tostar	0,00E+00
Día 4: Tostado- Día 2: Sin tostar	0,00E+00
Día 6: Sin tostar-Día 2: Sin tostar	0,00E+00
Día 6: Tostado-Día 2: Sin tostar	0,00E+00
Día 4: Sin tostar-Día 2: Tostado	0,00E+00
Día 4: Tostado-Día 2: Tostado	0,00E+00
Día 6: Sin tostar-Día 2: Tostado	0,00E+00

Grado de alcohol	
Día 6: Tostado-Día 2: Tostado	0,00E+00
Día 4: Tostado-Día 4: Sin tostar	0,00E+00
Día 6: Sin tostar-Día 4: Sin tostar	0,00E+00
Día 6: Tostado-Día 4: Sin tostar	0,00E+00
Día 6: Sin tostar-Día 4: Tostado	0,00E+00
Día 6: Tostado-Día 4: Tostado	0,00E+00
Día 6: Tostado-Día 6: Sin tostar	0,00E+00

Anexo 5. Mohos y levaduras identificados en las chichas de jora

Tabla 9.

Mohos y levaduras identificados en las chichas de jora

Microorganismos		% de lectura	
		Jora sin tostar T1	Jora tostada T2
1	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	0,005	
2	<i>Candida boleticola</i>	0,005	
3	<i>Candida carpophila</i>	0,005	
4	<i>Candida chrysomelidarum</i>	0,005	
5	<i>Candida olivae</i>	0,005	
6	<i>Cryptococcus</i> sp	0,005	
7	<i>Cystobasidium slooffiae</i>	0,005	
8	<i>Hanseniaspora opuntiae</i>	0,005	
9	<i>Lunulospora cymbiformis</i>	0,005	
10	<i>Metschnikowia agaves</i>	0,005	
11	<i>Naganishia bhutanensis</i>	0,005	
12	<i>Neokalmusia brevispora</i>	0,005	
13	<i>Saccharomycetales</i> sp	0,005	
14	<i>Scheffersomyces coipomensis</i>	0,005	
15	<i>Yamadazyma mexicana</i>	0,005	
16	<i>Candida flosculorum</i>	0,010	
17	<i>Cryptococcus frias</i>	0,010	
18	<i>Cryptococcus uniguttulatus</i>	0,010	
19	<i>Malassezia globosa</i>	0,010	
20	<i>Metschnikowia reukaufii</i>	0,010	
21	<i>Rhodotorula taiwanensis</i>	0,010	
22	<i>Sporobolomyces ruberrimus</i>	0,010	
23	<i>Naganishia albida</i>	0,015	
24	<i>Filobasidium floriforme</i>	0,025	
25	<i>Kurtzmaniella cleridarum</i>	0,030	
26	<i>Vishniacozyma peneaus</i>	0,040	
27	<i>Aureobasidium pullulans</i>	0,066	
28	<i>Kurtzmaniella</i> sp	0,066	
29	<i>Aureobasidium namibiae</i>	0,071	
30	<i>Candida smithsonii</i>	0,081	

	Microorganismos	% de lectura	
		Jora sin tostar T1	Jora tostada T2
31	<i>Candida parapsilosis</i>	0,121	
32	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	0,126	
33	<i>Candida schatavii</i>	0,232	
34	<i>Rhodotorula diobovata</i>	0,282	
35	<i>Filobasidium magnum</i>	1,109	
36	<i>Naganishia liquefaciens</i>	1,597	
37	<i>Achaetomium macrosporum</i>		0,003
38	<i>Acremonium alternatum</i>		0,009
39	<i>Acremonium breve</i>		0,003
40	<i>Aspergillus caesiellus</i>		0,014
41	<i>Aspergillus conicus</i>		0,106
42	<i>Aspergillus gracilis</i>		0,009
43	<i>Aspergillus halophilicus</i>		0,014
44	<i>Aspergillus penicillioides</i>		0,428
45	<i>Aspergillus puulaauensis</i>		0,032
46	<i>Balansia strangulans</i>		0,003
47	<i>Biscogniauxia repanda</i>		0,003
48	<i>Candida boleticola</i>		0,181
49	<i>Candida santamariae</i>		0,003
50	<i>Candida smithsonii</i>		0,009
51	<i>Cercophora mirabilis</i>		0,003
52	<i>Chaetomiaceae</i> sp		0,600
53	<i>Chaetomidium gallecicum</i>		5,185
54	<i>Chaetomium bostrychodes</i>		0,003
55	<i>Chaetomium homopilatum</i>		0,011
56	<i>Chaetomium iraniamum</i>		0,003
57	<i>Chaetomium</i> sp		0,003
58	<i>Cladosporium halotolerans</i>		0,026
59	<i>Coniochaeta polymorpha</i>		0,003
60	<i>Debaryomyces renaii</i>		0,003
61	<i>Fusarium ramigenum</i>		0,178
62	<i>Helicocentralis hyalina</i>		0,003
63	<i>Hirsutella longicolla</i>		0,003
64	<i>Humicola grisea</i>		0,003
65	<i>Humicola nigrescens</i>		76,199
66	<i>Kwoniella botswanensis</i>		0,011
67	<i>Metarhizium minus</i>		0,006
68	<i>Metschnikowia reukaufii</i>		0,003
69	<i>Neonectria platycephala</i>		0,003
70	<i>Penicillium jiangxiense</i>		0,006
71	<i>Pezicula pruinosa</i>		0,032
72	<i>Phialemoniopsis curvata</i>		0,014
73	<i>Podospora araneosa</i>		0,017
74	<i>Protocrea pallida</i>		0,003

Microorganismos	% de lectura	
	Jora sin tostar T1	Jora tostada T2
75 <i>Puccinia jasmini</i>		0,003
76 <i>Puccinia setariae</i>		0,003
77 <i>Retroconis fusiformis</i>		0,003
78 <i>Rhodotorula taiwanensis</i>		0,006
79 <i>Sarocladium kiliense</i>		0,003
80 <i>Staphylotrichum</i> sp		0,003
81 <i>Subramaniula anamorphosa</i>		0,129
82 <i>Subramaniula asteroides</i>		0,011
83 <i>Subramaniula fusispora</i>		3,494
84 <i>Subramaniula irregularis</i>		0,089
85 <i>Subramaniula obscura</i>		0,014
86 <i>Talaromyces rugulosus</i>		0,055
87 <i>Talaromyces stollii</i>		0,029
88 <i>Talaromyces wortmannii</i>		0,037
89 <i>Thielavia arenaria</i>		0,009
91 <i>Toninia physaroides</i>		0,003
92 <i>Triangularia backusii</i>		0,006
93 <i>Trichocladium pyriforme</i>		0,003
94 <i>Trichoderma hamatum</i>		0,003
95 <i>Trichoderma oligosporum</i>		0,003
96 <i>Vishniacozyma carnescens</i>		0,006

Anexo 6: Microorganismos que comparten los dos tratamientos

Tabla 10.

Microorganismos identificados en los dos tratamientos de chicha de jora

Microorganismos	% de lectura	
	Jora sin tostar T1	Jora tostada T2
1 <i>Candida intermedia</i>	43,383	0,026
2 <i>Meyerozyma caribbica</i>	24,345	0,037
3 <i>Candida quercitrusa</i>	18,479	0,109
4 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	3,139	0,924
5 <i>Rhodotorula glutinis</i>	0,791	0,040
6 <i>Meyerozyma guilliermondii</i>	0,474	0,043
7 <i>Candida railenensis</i>	0,252	0,393
8 <i>Rhodotorula babjevae</i>	0,050	0,006
9 <i>Rhodotorula graminis</i>	0,050	0,006
10 <i>Kurtzmaniella cleridarum</i>	0,030	0,003
11 <i>Torulaspora delbrueckii</i>	0,010	0,055
12 <i>Rhodotorula dairenensis</i>	0,010	0,006
13 <i>Wickerhamomyces anomalus</i>	0,005	0,589

14	<i>Sarocladium zeae</i>	0,005	0,583
15	<i>Cystobasidium slooffiae</i>	0,005	0,092
16	<i>Aspergillus restrictus</i>	0,005	0,017

Anexo 7. Levaduras con capacidad probiótica presentes en las chichas de jora

Tabla 11.

Levaduras con capacidad probiótica presentes en las chichas de jora

Probióticos	% de lectura	
	Jora sin tostar	Jora tostada
<i>Candida intermedia</i>	43,38	0,026
<i>Meyerozyma caribbica</i>	24,34	0,037
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	0,005	0,589
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	0,01	0,055
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	0,474	0,043

Anexo 8. Enzimas presentes en la chicha de jora

Tabla 12.

Enzimas presentes en la chicha de jora

Enzimas	% de lectura	
	Jora sin tostar	Jora tostada
<i>Humicola nigrescens</i>		76,199
<i>Chaetomiaceae_sp</i>		5,185
<i>Talaromyces rugulosus</i>		0,055
<i>Rhodotorula dairenensis</i>	0,01	0,006
<i>Humicola grisea</i>		0,003

Anexo 9. Levaduras secundarias presentes en la chicha de jora

Tabla 13.

Levaduras secundarias presentes en la chicha de jora

Levaduras secundarias	% de lectura	
	Jora sin tostar	Jora tostada
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	3,139	0,924
<i>Rhodotorula graminis</i>	0,050	0,006
<i>Rhodotorula glutinis</i>	0,791	0,040
<i>Metschnikowia reukaufii</i>	0,010	0,003
<i>Cystobasidium slooffiae</i>		0,092

Levaduras secundarias	% de lectura	
	Jora sin tostar	Jora tostada
<i>Vishniacozyma carnescens</i>		0,006
<i>Rhodotorula babjevae</i>		0,006
<i>Rhodotorula taiwanensis</i>		0,006
<i>Metarhizium minus</i>		0,006
<i>Rhodotorula diobovata</i>	0,282	
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	0,126	
<i>Kurtzmaniella_ sp</i>	0,066	
<i>Aureobasidium pullulans</i>	0,066	
<i>Naganishia albida</i>	0,015	

Anexo 10. Bacterias presentes en la chicha de jora

Tabla 14.

Bacterias presentes en la chicha de jora

Bacterias	% de lectura	
	T1	T2
1 <i>Acetivibrio_ethanolgignens</i> (FR749897)	0,003	
2 <i>Acidiferrobacter_thiooxydans</i> (AF387301)	0,003	
3 <i>Acidisoma_tundrae</i> (AM947652)	0,003	
4 <i>Acidobacteriaceae_bacterium</i> (AM749787)		
5 <i>Acinetobacter_johnsonii</i> (Z93440)	0,003	
6 <i>Acinetobacter_tjernbergiae</i> (NR_117629.1)	0,005	
7 <i>Actinomadura_rifamycini</i> (NR_113155.1)	0,003	
8 <i>Afipia_massiliensis</i> (AY029562)	0,003	
9 <i>agricultural_soil</i> (AJ252626)	0,003	
10 <i>Alicyclobacillus_ferrooxydans</i> (EU137838)	0,005	
11 <i>anaerobic_bacterium</i> (AB598277)	0,003	
12 <i>Anaeroplasma_abactoclasticum</i> (M25050)	0,003	
13 <i>Aneurinibacillus_danicus</i> (AB112725)	0,003	
14 <i>Bacillus_arsenicus</i> (AJ606700)	0,003	
15 <i>Bacillus_aryabhatai</i> (EF114313)	0,307	
16 <i>Bacillus_circulans</i> (AY043084)	0,003	
17 <i>Bacillus_horti</i> (D87035)	0,008	
18 <i>bacterium_DY22613</i> (KC794015)	0,003	
19 <i>bacterium_Ellin327</i> (AF498709)	0,003	
20 <i>bacterium_enrichment</i> (HQ436504)	0,003	
21 <i>Brochothrix_campestris</i> (X56156)	0,003	
22 <i>Bulleidia_extructa</i> (AF220064)	0,003	
23 <i>Chitinivibrio_alkaliphilus</i> (JF304641)	0,003	
24 <i>Christensenella_timonensis</i> (NR_144743.1)	0,003	
25 <i>Chthoniobacter_flavus</i> (AY388649)	0,003	
26 <i>Citrobacter_murlinae</i> (AF025369)	0,003	
27 <i>Cloacimonas_acidaminovorans</i> (CU466930)	0,003	
28 <i>Clostridium_chartatabidum</i> (X71850)	0,003	

Bacterias		% de lectura	
		T1	T2
29	<i>Clostridium_isatidis</i> (X98395)	0,003	
30	<i>Clostridium_paradoxum</i> (Z69929)	0,003	
31	<i>Clostridium_amosum</i> (X73440)	0,003	
32	<i>Cyclocasticus_pugetii</i> (L34955)	0,003	
33	<i>Deferrisoma_camini</i> (JF802205)	0,003	
34	<i>Desemzia_incerta</i> (Y17300)	0,003	
35	<i>Desulforegula_conservatrix</i> (AF243334)	0,003	
36	<i>Desulfotomaculum_putei</i> (AF053929)	0,008	
37	<i>Desulfotomaculum_ruminis</i> (Y11572)	0,003	
38	<i>Desulfurispora_thermophila</i> (AY548776)	0,003	
39	<i>Devosia_insulae</i> (EF012357)	0,003	
40	<i>Domibacillus_tundrae</i> (NR_137368.1)	0,005	
41	<i>Endobacter_medicaginis</i> (JQ436923)	0,008	
42	<i>Enterococcus_faecium</i> (NR_112039.1)	0,005	
43	<i>Escherichia_hermannii</i> (JN175345)	0,048	
44	<i>Eubacterium_coprostanoligenes</i> (HM037995)	0,003	
45	<i>Eubacterium_eligens</i> (L34420)	0,003	
46	<i>Eubacterium_uniforme</i> (GU269550)	0,003	
47	<i>Eubacterium_xylanophilum</i> (L34628)	0,003	
48	<i>Exiguobacterium_artemiae</i> (AM072763)	0,498	
49	<i>Exiguobacterium_indicum</i> (AJ846291)	0,003	
50	<i>Exiguobacterium_oxidotolerans</i> (AB105164)	0,003	
51	<i>Exiguobacterium_sibiricum</i> (CP001022)	3.077	
52	<i>Exiguobacterium_soli</i> (AY864633)	0,003	
53	<i>Fusibacter_fontis</i> (NR_137378.1)	0,003	
54	<i>Geobacter_pelophilus</i> (U96918)	0,003	
55	<i>Globicatella_sulfidifaciens</i> (AJ297627)	0,003	
56	<i>Gluconobacter_nephelii</i> (AB540148)	0,003	
57	<i>Gorillibacterium_massiliense</i> (NR_146838.1)	0,005	
58	<i>Hahella_ganghwensis</i> (AY676463)	0,003	
59	<i>Halobacillus_locisalis</i> (AY190534)	0,003	
60	<i>Haloplasma_contractile</i> (EF999972)	0,003	
61	<i>Hazenella_coriacea</i> (JQ798970)	0,003	
62	<i>Ilumatobacter_coccineus</i> (AB360346)	0,003	
63	<i>Intestinimonas_butyriciproducens</i> (KC311367)	0,016	
64	<i>Johnsonella_ignava</i> (X87152)	0,003	
65	<i>Klebsiella_pneumoniae</i> (AF130982)	0,008	
66	<i>Ktedonobacter_racemifer</i> (AM180156)	0,005	
67	<i>Laceyella_putida</i> (AF138736)	0,003	
68	<i>Lactobacillus_iners</i> (Y16329)	0,008	
69	<i>Lactobacillus_salivarius</i> (AF089108)	0,003	
70	<i>Lactococcus_hircilactis</i> (NR_136465.1)	0,003	
71	<i>Lactococcus_nasutitermitis</i> (NR_147780.1)	0,019	
72	<i>Lactococcus_sp.</i> (AB699722)	0,04	

	Bacterias	% de lectura	
		T1	T2
73	<i>Larkinella_inspersata</i> (AM000022)	0,005	
74	<i>Lentibacillus_garicola</i> (NR_136842.1)	0,003	
75	<i>Lentzea_californiensis</i> (AF174435)	0,003	
76	<i>Limimonas_halophila</i> (JN605361)	0,003	
77	<i>Magnetovibrio_blakemorei</i> (L06455)	0,003	
78	<i>Mariprofundus_ferrooxydans</i> (EF493243)	0,005	
79	<i>Mesoplasma_photuris</i> (AY177627)	0,005	
80	<i>Microaerobacter_geothermalis</i> (FN552009)	0,005	
81	<i>Mucilaginibacter_dorajii</i> (GU139697)	0,003	
82	<i>Mycobacterium_confluentis</i> (AJ634379)	0,003	
83	<i>Mycobacterium_tusciae</i> (AF058299)	0,003	
84	<i>Natroniella_acetigena</i> (X95817)	0,003	
85	<i>Neochlamydia_hartmannellae</i> (AF177275)	0,003	
86	<i>Oceanobacillus_caeni</i> (AB275883)	0,003	
87	<i>Oenococcus_kitaharae</i> (AB221475)	0,003	
88	<i>Olegusella_massiliensis</i> (NR_146815.1)	0,003	
89	<i>Paenibacillus_curdlanolyticus</i> (AB073202)	0,003	
90	<i>Paenibacillus_hodogayensis</i> (AB179866)	0,003	
91	<i>Paenibacillus_physcomitrellae</i> (NR_137363.1)	0,003	
92	<i>Paenibacillus_thermoaerophilus</i> (AB738878)	0,003	
93	<i>Pantoea_deleyi</i> (EF688011)	0,005	
94	<i>Pantoea_wallisii</i> (JF295057)	0,005	
95	<i>Parachlamydia_acanthamoebae</i> (Y07556)	0,003	
96	<i>Phenylobacterium_falsum</i> (AJ717391)	0,003	
97	<i>Phenylobacterium_haematophilum</i> (AJ244650)	0,003	
98	<i>Phycisphaerae_bacterium</i> (KM036168)	0,003	
99	<i>Pilibacter_termitis</i> (AY533171)	0,077	
100	<i>Planctomycetaceae_bacterium</i> (KP161655)	0,005	
101	<i>Pleomorphobacterium_xiamenense</i> (HQ709062)	0,003	
102	<i>Pseudomonas_kilonensis</i> (AJ292426)	0,003	
103	<i>Pseudomonas_putida</i> (D84020)	0,003	
104	<i>Reyranella_soli</i> (JX260424)	0,003	
105	<i>Rhodopseudomonas_rhenobacensis</i> (AB087719)	0,003	
106	<i>Rubidimonas_crustatorum</i> (NR_113282.1)	0,003	
107	<i>Rubripirellula_obstinata</i> (NR_146677.1)	0,003	
108	<i>Ruminococcus_torques</i> (L76604)	0,003	
109	<i>Salinibacillus_kushneri</i> (AY321434)	0,003	
110	<i>Sandaracinus_amylolyticus</i> (HQ540311)	0,003	
111	<i>Serratia_fonticola</i> (NR_121793.1)	0,003	
112	<i>Shimazuella_kribbensis</i> (AB049939)	0,008	
113	<i>Siccibacter_turicensis</i> (DQ273681)	0,008	
114	<i>Sorangiineae_bacterium</i> (GU249616)	0,003	
115	<i>Sphingobacteria_bacterium</i> (FR774778)	0,005	
116	<i>Sphingomonas_roseiflava</i> (D84520)	0,003	

Bacterias		% de lectura	
		T1	T2
117	<i>Sporotomaculum_syntrophicum</i> (AB076610)	0,003	
118	<i>Staphylococcus_fleurettii</i> (AB233330)	0,011	
119	<i>Staphylococcus_vitulinus</i> (AB009946)	0,019	
120	<i>Streptococcus_danieliae</i> (GQ456229)	0,003	
121	<i>Streptococcus_halichoeri</i> (AJ606046)	0,016	
122	<i>Streptococcus_minor</i> (AY232832)	0,005	
123	<i>Streptococcus_orisratti</i> (AF124350)	0,027	
124	<i>Streptococcus_phocae</i> (AJ621053)	0,005	
125	<i>Streptococcus_sobrinus</i> (AY188349)	0,008	
126	<i>Streptococcus_sp.</i> (KF999657)	0,003	
127	<i>Tellurimicrobium_multivorans</i> (NR_146026.1)	0,003	
128	<i>Tepidimonas_aquatica</i> (AY324139)	0,003	
129	<i>Terrimonas_pekingensis</i> (JF834159)	0,003	
130	<i>Tetragenococcus_koreensis</i> (AY690334)	0,003	
131	<i>Tetragenococcus_muriaticus</i> (D88824)	0,003	
132	<i>Tetragenococcus_osmophilus</i> (EU522083)	0,013	
133	<i>Thermoanaerobacter_acetoethylicus</i> (L09163)	0,003	
134	<i>Thermoanaerobaculum_aquaticum</i> (JX420244)	0,003	
135	<i>Thermoflexus_hugenholtzii</i> (KC526151)	0,003	
136	<i>Thermoleophilum_album</i> (AJ458462)	0,003	
137	<i>uncultivated_soil</i> (AF013554)	0,003	
138	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (AJ582045)	0,005	
139	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (AY217494)	0,003	
140	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (EF457354)	0,003	
141	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (EF457359)	0,003	
142	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (EF457375)	0,003	
143	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (EF457393)	0,003	
144	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (EF457405)	0,003	
145	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (EF457441)	0,003	
146	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (EF457454)	0,003	
147	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (EF457495)	0,003	
148	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (EF457502)	0,003	
149	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (Z95713)	0,003	
150	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (Z95721)	0,003	
151	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (Z95725)	0,003	
152	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (Z95733)	0,003	
153	<i>uncultured_bacterium</i> (AB013271)	0,005	
154	<i>uncultured_bacterium</i> (AF268994)	0,003	
155	<i>uncultured_bacterium</i> (AF523986)	0,003	
156	<i>uncultured_bacterium</i> (AJ295657)	0,003	
157	<i>uncultured_bacterium</i> (AY218772)	0,003	
158	<i>uncultured_bacterium</i> (AY375053)	0,003	
159	<i>uncultured_bacterium</i> (AY555786)	0,003	
160	<i>uncultured_bacterium</i> (EU335186)	0,003	

		% de lectura	
		T1	T2
161	<i>uncultured_eubacterium</i> (AJ292684)	0,003	
162	<i>uncultured_eubacterium</i> (AJ292687)	0,003	
163	<i>uncultured_Holophaga</i> (AJ536864)	0,003	
164	<i>uncultured_soil</i> (AY289397)	0,005	
165	<i>unidentified_bacterium</i> (X64381)	0,005	
166	<i>Vagococcus_lutrae</i> (Y17152)	0,003	
167	<i>Variovorax_boronicumulans</i> (AB300597)	0,005	
168	<i>Virgibacillus_halodenitrificans</i> (AY543169)	0,003	
169	<i>Viridibacillus_arvi</i> (AJ627211)	0,005	
170	<i>Weissella_diestrammenae</i> (JQ646523)	0,005	
171	<i>Weissella_halotolerans</i> (AB022926)	0,003	
172	<i>Weissella_hellenica</i> (S67831)	0,003	
173	<i>Weissella_paramesenteroides</i> (AB023238)	0,008	
174	<i>Weissella_soli</i> (AY028260)	0,003	
175	<i>Weissella_sp.</i> (KF999666)	0,003	
176	<i>Woeseia_oceani</i> (NR_147719.1)	0,003	
177	<i>Acetoanaerobium_pronyense</i> (NR_136796.1)		0,003
178	<i>Acidaminococcus_fermentans</i> (X78017)		0,003
179	<i>Actinomyces_vaccimaxillae</i> (AJ427451)		0,003
180	<i>Aggregicoccus_edonensis</i> (KF767690)		0,011
181	<i>Algimonas_ampicilliniresistens</i> (AB795010)		0,003
182	<i>Alicyclobacillus_pohliae</i> (AJ564766)		0,003
183	<i>Alkalimarinus_sediminis</i> (NR_137384.1)		0,003
184	<i>Amaricoccus_kaplicensis</i> (U88041)		0,003
185	<i>Ammoniibacillus_agariperforans</i> (AB745450)		0,003
186	<i>Aquicella_siphonis</i> (AY359283)		0,003
187	<i>Aquisphaera_giovannonii</i> (DQ986200)		0,003
188	<i>Arthrobacter_phenanthrenivorans</i> (AM176541)		0,008
189	<i>Bacillus_cereus</i> (AM747234)		0,014
190	<i>Bacillus_flexus</i> (NR_118382.1)		0,008
191	<i>Bacillus_funiculus</i> (AB049195)		0,003
192	<i>Bacillus_infantis</i> (AY904032)		0,003
193	<i>Bacillus_kochii</i> (FN995265)		0,003
194	<i>Bacillus_lentus</i> (AB021189)		0,003
195	<i>Bacillus_lindianensis</i> (NR_146035.1)		0,003
196	<i>Bacillus_luciferensis</i> (AJ419629)		0,003
197	<i>Bacillus_pseudomycoides</i> (AF013121)		0,03
198	<i>Bacillus_siamensis</i> (GQ281299)		0,003
199	<i>Bacillus_sp.</i> (JX848633)		0,003
200	<i>Bacillus_sp.</i> (KC616733)		0,005
201	<i>Bacillus_thermocloacae</i> (Z26939)		0,003
202	<i>Bacillus_vietnamensis</i> (AB099708)		0,003
203	<i>bacterium_Ellin5106</i> (AY234523)		0,003
204	<i>Balneatrix_alpica</i> (Y17112)		0,003

	Bacterias	% de lectura	
		T1	T2
205	<i>Biostraticola_tofi</i> (AM774412)		0,003
206	<i>Blastochloris_viridis</i> (AF084495)		0,003
207	<i>Bowmanella_dokdonensis</i> (NR_146684.1)		0,003
208	<i>Brenneria_sp.</i> (KJ632518)		0,003
209	<i>Breznakia_pachnodae</i> (NR_146687.1)		0,003
210	<i>Bythopirellula_goksoyri</i> (NR_118636.1)		0,003
211	<i>Caecibacter_massiliensis</i> (NR_147376.1)		0,003
212	<i>Calditerricola_yamamurae</i> (AB308475)		0,003
213	<i>Cavicella_subterranea</i> (NR_145637.1)		0,003
214	<i>Cellvibrio_japonicus</i> (AF452103)		0,003
215	<i>Cellvibrio_sp.</i> (JQ922426)		0,003
216	<i>Chitinophaga_sp.</i> (KC922450)		0,005
217	<i>Clostridium_proteolyticum</i> (X73448)		0,003
218	<i>Clostridium_schirmacherense</i> (AM114453)		0,003
219	<i>Cohnella_capsici</i> (NR_148291.1)		0,005
220	<i>Dankookia_rubra</i> (NR_146664.1)		0,003
221	<i>Dehalococcoides_mccartyi</i> (CP000027)		0,003
222	<i>Desulfitobacterium_aromaticivorans</i> (EU711071)		0,003
223	<i>Desulfonema_magnum</i> (U45989)		0,003
224	<i>Desulfosporomusa_polytropha</i> (AJ006606)		0,008
225	<i>Desulfotomaculum_acetoxidans</i> (Y11566)		0,005
226	<i>Desulfovibrio_cuneatus</i> (X99501)		0,003
227	<i>Desulfovibrio_inopinatus</i> (AF177276)		0,003
228	<i>Dokdonella_immobilis</i> (FJ455531)		0,003
229	<i>Edaphobacter_dinghuensis</i> (NR_147748.1)		0,003
230	<i>Emticicia_aquatica</i> (NR_145846.1)		0,003
231	<i>Erwinia_amylovora</i> (AJ233410)		0,003
232	<i>Erwinia_iniecta</i> (NR_137333.1)		0,003
233	<i>Erwinia_papayae</i> (AY131237)		0,104
234	<i>Erwinia_piriflorinigrans</i> (GQ405202)		0,003
235	<i>Erwinia_psidii</i> (JQ809696)		0,058
236	<i>Erwinia_toletana</i> (FR870447)		0,016
237	<i>Erwinia_tracheiphila</i> (Y13250)		0,011
238	<i>Escherichia/Shigella_dysenteriae</i> (X96966)		0,003
239	<i>Escherichia_hermannii</i> (JN175345)		0,003
240	<i>Euzebya_tangerina</i> (AB478418)		0,005
241	<i>Ferruginibacter_lapsinensis</i> (FJ177532)		0,003
242	<i>Fictibacillus_sp.</i> (JF893461)		0,003
243	<i>Flavobacterium_algicola</i> (AB455265)		0,003
244	<i>Flexivirga_alba</i> (AB539735)		0,003
245	<i>Fluviicoccus_keumensis</i> (NR_147743.1)		0,003
246	<i>Gammaproteobacteria_bacterium</i> (KM017973)		0,003
247	<i>Gemmatirosa_kalamazoonesis</i> (NR_132675.1)		0,003
248	<i>Gemmobacter_caeni</i> (FJ386516)		0,005

	Bacterias	% de lectura	
		T1	T2
249	<i>Geobacter_chapellei</i> (U41561)		0,003
250	<i>Geobacter_psychrophilus</i> (AY653549)		0,005
251	<i>Geopsychrobacter_electrodiphilus</i> (AY187303)		0,003
252	<i>Hahella_antarctica</i> (EF495227)		0,005
253	<i>Hahella_chejuensis</i> (CP000155)		0,008
254	<i>Hahella_ganghwensis</i> (AY676463)		0,003
255	<i>Haliangium_ochraceum</i> (AB016470)		0,011
256	<i>Halochromatium_roseum</i> (AM283535)		0,003
257	<i>Halolactibacillus_miurensis</i> (AB196784)		0,003
258	<i>Halomonas_ilicicola</i> (EU218533)		0,011
259	<i>Hoeflea_anabaenae</i> (DQ364238)		0,003
260	<i>Holophaga_sp.</i> (AF385537)		0,003
261	<i>Ihubacter_massiliensis</i> (NR_144749.1)		0,003
262	<i>Ilumatobacter_nonamiensis</i> (AB360345)		0,003
263	<i>Intestinimonas_butyrificiproducens</i> (KC311367)		0,038
264	<i>Isobaculum_melis</i> (AJ302648)		0,005
265	<i>Janibacter_terrae</i> (AF176948)		0,003
266	<i>Kaistia_adipata</i> (AY039817)		0,003
267	<i>Klebsiella_singaporensis</i> (AF250285)		0,003
268	<i>Kofleria_flava</i> (AJ233944)		0,005
269	<i>Kosakonia_sacchari</i> (JQ001784)		0,011
270	<i>Ktedonobacter_racemifer</i> (AM180156)		0,005
271	<i>Laceyella_putida</i> (AF138736)		0,003
272	<i>Lebetimonas_acidiphila</i> (AB167820)		0,003
273	<i>Luminiphilus_syltensis</i> (NR_125526.1)		0,003
274	<i>Lysinibacillus_composti</i> (AB547124)		0,005
275	<i>Lysobacter_ruishenii</i> (GU086401)		0,003
276	<i>Marinobacterium_coralli</i> (GU183820)		0,003
277	<i>Marinomonas_hwangdonensis</i> (JN087530)		0,005
278	<i>Marispirillum_indicum</i> (EU642410)		0,003
279	<i>Massilibacterium_senegalense</i> (NR_144721.1)		0,003
280	<i>Melghirimyces_algeriensis</i> (HQ383683)		0,003
281	<i>Mesoplasma_photuris</i> (AY177627)		0,003
282	<i>Methylohalobius_crimeensis</i> (AJ581837)		0,003
283	<i>Methylomarinum_vadi</i> (AB301717)		0,003
284	<i>Microbacterium_nanhaiense</i> (NR_137348.1)		0,003
285	<i>Mucinivorans_hirudinis</i> (HG934468)		0,003
286	<i>Natronincola_histidinovorans</i> (Y16716)		0,003
287	<i>Nitrincola_lacisaponensis</i> (AY567473)		0,003
288	<i>Occallatibacter_savannae</i> (NR_147737.1)		0,003
289	<i>Oceanobacillus_neutrophilus</i> (EU709018)		0,003
290	<i>Oligella_ureolytica</i> (AJ251912)		0,008
291	<i>Oligosphaera_ethanolica</i> (AB558581)		0,003
292	<i>Orientia_chuto</i> (NR_117903.1)		0,003

	Bacterias	% de lectura	
		T1	T2
293	<i>Paenibacillus_contaminans</i> (EF626690)		0,003
294	<i>Paenibacillus_hunanensis</i> (EU741036)		0,003
295	<i>Paenibacillus_ihumii</i> (NR_144734.1)		0,003
296	<i>Paenibacillus_lactis</i> (AY257868)		0,003
297	<i>Paenibacillus_marinisediminis</i> (JF748731)		0,003
298	<i>Paenibacillus_mucilaginosus</i> (NR_116536.1)		0,003
299	<i>Paenibacillus_sp.</i> (JF811909)		0,005
300	<i>Paenibacillus_taiwanensis</i> (DQ890521)		0,003
301	<i>Paenibacillus_taohuashanense</i> (NR_118393.1)		0,003
302	<i>Paenibacillus_telluris</i> (HQ257247)		0,003
303	<i>Paenibacillus_terrae</i> (AF391124)		0,044
304	<i>Paenibacillus_turicensis</i> (AF378694)		0,019
305	<i>Paenibacillus_wenxiniae</i> (NR_145946.1)		0,005
306	<i>Paenibacillus_woosongensis</i> (AY847463)		0,003
307	<i>Paenibacillus_xylaniclasticus</i> (NR_116719.1)		0,003
308	<i>Paludibacter_jiangxiensis</i> (NR_146018.1)		0,003
309	<i>Pantoea_stewartii</i> (U80208)		0,005
310	<i>Pantoea_theicola</i> (NR_137415.1)		0,036
311	<i>Peptococcus_niger</i> (X55797)		0,003
312	<i>Phaselicystis_flava</i> (EU545827)		0,005
313	<i>Phaseolibacter_flectens</i> (AB021400)		0,003
314	<i>Photorhabdus_asymbiotica</i> (Z76755)		0,003
315	<i>Photorhabdus_sp.</i> (HQ142626)		0,008
316	<i>Phytobacter_diazotrophicus</i> (NR_115869.1)		0,003
317	<i>Piscirickettsia_salmonis</i> (U36941)		0,003
318	<i>Planctomyces_maris</i> (AJ231184)		0,005
319	<i>Planctomycetaceae_bacterium</i> (KP161655)		0,003
320	<i>Planctomycetes_bacterium</i> (KC867695)		0,003
321	<i>Pluralibacter_pyrinus</i> (AJ010486)		0,003
322	<i>Povalibacter_uvarum</i> (AB548216)		0,003
323	<i>Prosthecomicrobium_hirschii</i> (HM037994)		0,003
324	<i>Providencia_alcalifaciens</i> (AJ301684)		0,014
325	<i>Pseudomonadaceae_bacterium</i> (KJ721800)		0,003
326	<i>Pseudomonas_agarici</i> (Z76652)		0,005
327	<i>Pseudomonas_borbori</i> (AM114527)		0,003
328	<i>Pseudomonas_caeni</i> (EU620679)		0,003
329	<i>Pseudomonas_caricapapayae</i> (D84010)		0,005
330	<i>Pseudomonas_fluorescens</i> (D84013)		0,019
331	<i>Pseudomonas_japonica</i> (AB126621)		0,003
332	<i>Pseudomonas_jinjuensis</i> (AF468448)		0,003
333	<i>Pseudomonas_lutea</i> (AY364537)		0,005
334	<i>Pseudomonas_mendocina</i> (D84016)		0,011
335	<i>Pseudomonas_mucidolens</i> (D84017)		0,003
336	<i>Pseudomonas_orientalis</i> (AF064457)		0,005

	Bacterias	% de lectura	
		T1	T2
337	<i>Pseudomonas_pohangensis</i> (DQ339144)		0,008
338	<i>Pseudomonas_protegens</i> (AJ278812)		0,099
339	<i>Pseudomonas_sp.</i> (JQ762275)		0,03
340	<i>Pseudomonas_straminea</i> (D84023)		0,049
341	<i>Pseudomonas_synxantha</i> (D84025)		0,008
342	<i>Pseudomonas_thermotolerans</i> (AJ311980)		0,003
343	<i>Pseudomonas_veronii</i> (AF064460)		0,008
344	<i>Pseudomonas_viridiflava</i> (AY180972)		0,008
345	<i>Pseudomonas_vranovensis</i> (AY970951)		0,003
346	<i>Pseudomonas_xanthomarina</i> (AB176954)		0,003
347	<i>Pseudomonas_zeshuii</i> (JN411093)		0,008
348	<i>Pseudorhodobacter_ferrugineus</i> (D88522)		0,003
349	<i>Pseudoxanthomonas_sangjuensis</i> (NR_137263.1)		0,003
350	<i>Pseudoxanthomonas_taiwanensis</i> (AF427039)		0,003
351	<i>Raoultella_planticola</i> (AF129443)		0,005
352	<i>Rehaibacterium_terrae</i> (KC999854)		0,003
353	<i>Rheinheimera_salexigens</i> (NR_145632.1)		0,003
354	<i>Rhizobiales_bacterium</i> (KJ406703)		0,008
355	<i>Rhodoligotrophos_appendicifer</i> (AB617575)		0,003
356	<i>Rhodospirillaceae_bacterium</i> (HE795994)		0,003
357	<i>Roseococcus_thiosulfatophilus</i> (X72908)		0,003
358	<i>Rubellimicrobium_thermophilum</i> (AJ844281)		0,003
359	<i>Rudaea_cellulosilytica</i> (EU741687)		0,003
360	<i>Ruminobacter_amylophilus</i> (Y15992)		0,003
361	<i>Saccharococcus_thermophilus</i> (L09227)		0,003
362	<i>Saccharopolyspora_shandongensis</i> (EF104116)		0,003
363	<i>Salmonella_bongori</i> (AF029227)		0,003
364	<i>Salmonella_enterica</i> (AF008580)		0,134
365	<i>Salmonella_subterranea</i> (NR_115224.1)		0,005
366	<i>Salsuginibacillus_kocurii</i> (AM492160)		0,003
367	<i>Samsonia_erythrinae</i> (AF273037)		0,016
368	<i>Serratia_fonticola</i> (NR_121793.1)		0,014
369	<i>Shewanella_frigidimarina</i> (U85903)		0,003
370	<i>Shewanella_olleyana</i> (AF295592)		0,003
371	<i>Siccibacter_turicensis</i> (DQ273681)		0,033
372	<i>Silanimonas_mangrovi</i> (HE573746)		0,003
373	<i>Singulisphaera_rosea</i> (FN391026)		0,003
374	<i>Solibacter_usitatus</i> (CP000473)		0,005
375	<i>Sporolactobacillus_kofuensis</i> (AB374517)		0,003
376	<i>Sporosarcina_pasteurii</i> (HQ676600)		0,003
377	<i>Sporosarcina_sp.</i> (KF258678)		0,003
378	<i>Steroidobacter_agariperforans</i> (AB174844)		0,003
379	<i>Steroidobacter_denitrificans</i> (EF605262)		0,003
380	<i>Taibaiella_chishuiensis</i> (KF694752)		0,003

	Bacterias	% de lectura	
		T1	T2
381	<i>Tepidibacillus_fermentans</i> (KC242245)		0,003
382	<i>Thermomicrobium_roseum</i> (M34115)		0,003
383	<i>Thermomonospora_curvata</i> (NR_114409.1)		0,005
384	<i>Thioalbus_denitrificans</i> (EU837269)		0,003
385	<i>Thioalkalivibrio_paradoxus</i> (AF151432)		0,003
386	<i>Thiocapsa_marina</i> (AF112998)		0,003
387	<i>Thiohalocapsa_marina</i> (AM491592)		0,003
388	<i>Triticum_aestivum</i> (AB042240)		0,008
389	<i>Turicibacter_sanguinis</i> (AF349724)		0,005
390	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (AF465650)		0,003
391	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (AF529104)		0,005
392	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (AJ582045)		0,003
393	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (AY043842)		0,003
394	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (EF457329)		0,003
395	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (EF457350)		0,008
396	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (EF457355)		0,003
397	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (EF457357)		0,003
398	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (EF457360)		0,003
399	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (EF457362)		0,003
400	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (EF457380)		0,003
401	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (EF457485)		0,003
402	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (Z95707)		0,005
403	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (Z95719)		0,003
404	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (Z95729)		0,003
405	<i>uncultured_Acidobacteria</i> (Z95733)		0,003
406	<i>uncultured_Acidobacteriaceae</i> (AY225642)		0,003
407	<i>uncultured_bacterium</i> (AJ009461)		0,003
408	<i>uncultured_bacterium</i> (AY102321)		0,003
409	<i>uncultured_bacterium</i> (AY212563)		0,003
410	<i>uncultured_bacterium</i> (AY555791)		0,003
411	<i>uncultured_candidate</i> (AY193196)		0,003
412	<i>uncultured_eubacterium</i> (AJ292571)		0,003
413	<i>uncultured_eubacterium</i> (AJ292581)		0,003
414	<i>uncultured_Holophaga</i> (AJ519386)		0,003
415	<i>uncultured_soil</i> (AJ390449)		0,003
416	<i>uncultured_soil</i> (AY326549)		0,003
417	<i>uncultured_soil</i> (AY326556)		0,005
418	<i>uncultured_verrucomicrobium</i> (AJ401132)		0,003
419	<i>unidentified_eubacterium</i> (U51864)		0,008
420	<i>Vitreoscilla_stercoraria</i> (L06174)		0,003
421	<i>Wenzhouxiangella_marina</i> (NR_136878.1)		0,003

Anexo 11. Bacterias con capacidad probiótica presentes en la chicha de jora

Tabla 15.

Bacterias con capacidad probiótica presentes en la chicha de jora

Bacterias probióticas	% de lectura	
	Jora sin tostar (T1)	Jora tostada (T2)
<i>Leuconostoc lactis</i>	0.016	0.411
<i>Lactococcus sp</i>		0.040
<i>Streptococcus orisratti</i>		0.027
<i>Tetragenococcus osmophilus</i>		0.013
<i>Weissella paramesenteroides</i>		0.008
<i>Weissella diestrammenae</i>		0.005
<i>Enterococcus faecium</i>		0.005
<i>Weissella hellenica</i>		0.003
<i>Christensenella sp</i>		0.003
<i>Ornithinibacillus sp</i>	0.011	0.003
<i>Lactobacillus salivarius</i>		0.003
<i>Lactococcus hircilactis</i>		0.003

Anexo 12. Análisis fisicoquímicos (°Brix) de la chicha de jora

Tabla 16.

Análisis fisicoquímicos (°Brix) de la chicha de jora

Días de fermentación		Análisis Fisicoquímicos	
		°Brix	
Día 2		Tratamiento 1	Tratamiento 2
	R1	8,9	9,0
	R2	8,4	9,2
	R3	7,6	9,3
	R4	9	9,1
Día 4		Tratamiento 1	Tratamiento 2
	R1	9,2	9,4
	R2	8,8	9,4
	R3	9	9,3
	R4	8,9	9,5
Día 6		Tratamiento 1	Tratamiento 2
	R1	8	10,2
	R2	8	10,1
	R3	8,3	10,3
	R4	8,2	10,4

Anexo 13. Análisis fisicoquímicos (pH) de la chicha de jora**Tabla 17.**

Análisis fisicoquímicos (pH) de la chicha de jora

Días de fermentación		Análisis Fisicoquímicos	
		pH	
Día 2		Tratamiento 1	Tratamiento 2
	R1	3,81	3,82
	R2	3,81	3,82
	R3	3,81	3,82
	R4	3,81	3,82
Día 4		Tratamiento 1	Tratamiento 2
	R1	9,2	3,3
	R2	8,8	3,4
	R3	9	3,3
	R4	8,9	3,1
Día 6		Tratamiento 1	Tratamiento 2
	R1	8	3,2
	R2	8	3,4
	R3	8,3	3,3
	R4	8,2	3,4

Anexo 14. Análisis fisicoquímicos (grado alcohólico) de la chicha de jora**Tabla 18.**

Análisis fisicoquímicos (grado alcohólico) de la chicha de jora

Días de fermentación		Análisis Fisicoquímicos	
		Grado Alcohólico	
Día 2		Tratamiento 1	Tratamiento 2
	R1	2,6	3,1
	R2	2,5	3,2
	R3	2,5	3,1
Día 4		Tratamiento 1	Tratamiento 2
	R1	5,6	6,7
	R2	5,7	6,8
	R3	5,5	6,6
Día 6		Tratamiento 1	Tratamiento 2
	R1	9,2	8,8
	R2	9,4	8,9
	R3	9	8,9

Anexo 15. Informe de metagenómica obtenido por BioSequence

Figura 26.

Informe del análisis de metagenómica para mohos y levaduras

Página 1 de 2
Reporte: 2321_NULL_KJURADO
Fecha: 30/11/2023



REPORTE DE SECUENCIAMIENTO BIOSEQUENCE: 2321_NULL_KJURADO

1. INFORMACIÓN GENERAL

1.1 INFORMACIÓN DE CLIENTE	1.2 ANÁLISIS A REALIZAR
Empresa: Universidad Politécnica Estatal del Carchi Tipo: Investigación RUC: 040183048-4 Nombre: Karla Noellia Jurado Navarrete Teléfono: (+593) 99 668 6502 Dirección: Bolívar, Carchi, calle Julio Andrade Correo: karlinoe310@gmail.com	Tipo de análisis: Diversidad Fúngica Número de muestras: 2 Extracción: SI Metodología: Metagenómica de amplicones Región: ITS ITS 2 ITS 86F: GTGAATCATCGAATCTTGAA ITS 4: TCCTCCGCTTATTGATATGC Base de datos: Fungi

1.3 DESCRIPCIÓN DE LAS MUESTRAS RECIBIDAS:					
FECHA: 29 de noviembre de 2023					
#	BioSequence ID	Nombre de Muestra	Fuente	Volumen	Fecha de recolección
1	KJ10-23-1_ITS	KJsec_001	Cultivo	NA	NA
2	KJ10-23-2_ITS	KJtos_002	Cultivo	NA	NA

NA = No Aplica;

Comentario. - Se reciben 9 muestras de cultivo para procesamiento. En total 9 secuencias analizadas.

2. CONTROL DE CALIDAD DE PREPARACIÓN DE LIBRERÍAS

#	BioSequence ID	2.1 ANÁLISIS DE MATERIAL GENÉTICO		2.2 PRIMERA AMPLIFICACIÓN	
		gDNA	Concentración (ng/μL)	Amplicón	Banda (bp)
1	KJ10-23-1_ITS	OK	6,90	OK	450
2	KJ10-23-2_ITS	Bajo	4,00	OK	450

COMENTARIO. - Se realizó la verificación del ADN genómico de las muestras mencionadas, el rendimiento de cada una de ellas depende del tipo de sustrato y de la cantidad de organismos presentes.

EXTRACCIÓN DE MATERIAL GENÉTICO. - Se utiliza un kit comercial ZymoBIOMICS DNA Kits a base de columnas, diseñado para muestras de suelo, heces, agua, biofilms y células bacterianas/fúngicas. El objetivo del proceso de extracción es obtener el ADN total presente de la muestra, lo que comprende material genético de bacterias (incluyendo endoesporas), hongos, protozoos, algas, virus, mitocondrias, y también del hospedero. Durante el procesamiento, se busca excluir el ADN del huésped; sin embargo, el nivel de contaminación final por este elemento será dependiente de la proveniencia de las muestras. Para más información consulte con el asesor correspondiente.

AMPLICIÓN PCR. - Se amplificó las regiones de interés utilizando el ADN genómico extraído de cada muestra. Se utilizaron primers específicos acorde a las necesidades establecidas en la hoja de registro de muestras 2321_NULL_KJURADO. Con este paso identificamos la presencia o ausencia de los microorganismos de nuestro interés. De igual forma, se realiza el primer lavado usando perlas magnéticas para purificar el amplicón el amplicón ITS, ITS2 de primers libres y especies de dímeros de primers.

#	BioSequence ID	2.4 SEGUNDA AMPLIFICACIÓN		
		Índice	Banda (bp)	Concentración (ng/ul)
1	KJ10-23-1_ITS	D-N722	D-S518	≈500
2	KJ10-23-2_ITS	D-N722	D-S520	≈500

REPORTE DE SECUENCIAMIENTO BIOSEQUENCE: 2321_NULL_KJURADO

amplicones de una misma muestra para poder distinguirlos de los amplicones de otras muestras, lo que permite secuenciar múltiples muestras en paralelo y obtener datos independientes para cada una. Se realiza el segundo lavado usando perlas magnéticas para limpiar la biblioteca final. Finalmente, las librerías purificadas son cuantificadas y cualificadas para determinar su idoneidad para ser secuenciadas.

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS DE SECUENCIACIÓN

#	BioSequence ID	Lecturas	Índice de diversidad de especies de Shannon	Número de especies Identificadas
1	KJ10-23-1_ITS	34 831	1.006	75
2	KJ10-23-2_ITS	19 844	1.573	50

ANÁLISIS DE DIVERSIDAD. - Los archivos Fastq, son sometidos a un proceso de calidad y filtrado para garantizar la clasificación taxonómica. Para la clasificación taxonómica se utiliza una implementación de un algoritmo de alto rendimiento del clasificador Ribosomal Database Project (RDP) descrito en Wang Q. et al et al (<http://dx.doi.org/10.1128%2FAEM.00062-07>). La base de datos utilizada es la UNITE Fungal ITS Database v7.2, basada en un conjunto de archivos FASTA de: UNITE Community. <https://doi.org/10.15156/BIO/587475>.

Acceda al análisis y datos crudos en el siguiente vínculo: <https://basespace.illumina.com/s/ruvPhpaZJCT3>

Es necesario poseer una cuenta en la plataforma BaseSpace (Illumina) para poder acceder a los datos. De no contar con una cuenta personal, realice el registro como usuario nuevo.

Nota: Toda la información que se presenta en este informe es de propiedad del cliente. BioSequence Ecuador mantiene **temporalmente** dicha información en la cuenta Base Space (Illumina) de su propiedad hasta que se haga la transferencia de los datos a la cuenta del cliente. Posterior a dicho evento BioSequence no tendrá acceso alguno a la información provista.

Atentamente,



Luis Felipe Urresta

Ingeniero en Biotecnología

BIOSEQUENCE S.A.S

Anexo 16. Informe de metagenómica obtenido por Biosequence

Figura 27.

Informe del análisis de metagenómica para bacterias

REPORTE DE SECUENCIACIÓN

1. INFORMACIÓN GENERAL

Información De Cliente		Análisis Realizados	
Empresa:	Universidad Politécnica Estatal del Carchi	Tipo de análisis:	Análisis de microbiomas
RUC:	040183048-4	Tipo de muestra:	Ambiental
Responsable:	Karla Noelia Jurado Navarete	No. Muestras:	02
Correo:	karlinoe310@gmail.com	Extracción:	No
Teléfono:	(+593) 99 668 6502	Bioinformática:	No
Dirección:	Bolívar, Carchi, calle Julio Andrade	Interpretación:	No

RECEPCION DE MUESTRAS Y CALIDAD:

#	BioSequence ID	Nombre de Muestra	Fuente	Integridad	Concentración (ng/μL)	Cumple
1	231019-KJ-001	KJsec_001	Cultivo	OK	6,90	Si
2	231019-KJ-002	Kjtos_002	Cultivo	Bajo	4,00	Si
Fecha de recepción:		29/01/2024				
Comentario. Las muestras cumplen con la concentración de ADN > a ~20 ng/ul y su integridad no se ve comprometida.						

CONTROL DE CALIDAD DE PREPARACIÓN DE LIBRERÍAS

#	BioSequence ID	Índices		Banda (bp)	Concentración (ng/ul)	Cumple
1	231019-KJ-001	C-N706	C-S520	~630	312,00	Sí
2	231019-KJ-002	C-N706	C-S521	~630	344,00	Sí
Comentario. Cumple con el parámetro de preparación de librerías ~550 pb y concentración > 10 ng/ul						

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE SECUENCIACIÓN

#	BioSequence ID	Lecturas	Índice de diversidad de especies de Shannon	Número de especies Identificadas
1	231019-KJ-001	36,468	0.973	300
2	231019-KJ-002	37,729	0.478	229
Comentario. Cumple con todos los parámetros de calidad, acorde al panel de 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation de la marca Illumina, cobertura promedio 150X.				

2. GENES ANALIZADOS

Región V3 - V4, 16S.
341F: CCTACGGGNGGCWGCAG
805R: GACTACHVGGGTATCTAATCC

3. METODOLOGÍA

EXTRACCIÓN DE MATERIAL GENÉTICO. - Se utiliza un kit comercial ZymoBIOMICS DNA Kits a base de columnas diseñado para muestras de suelo, heces, agua, biofilms y células bacterianas/fúngicas. El objetivo del proceso de extracción es obtener el ADN total presente en la muestra, lo que comprende material genético de bacterias (incluyendo endoesporas), hongos, protozoos, algas, virus, mitocondrias, y también del hospedero. Durante el procesamiento, se busca excluir el ADN del huésped, sin embargo, el nivel de contaminación final por este elemento será dependiente de la proveniencia de las muestras. Para más información consulte con el asesor correspondiente.

Se utiliza el protocolo otorgado por Illumina para la preparación de librerías en la secuenciación metagenómica 16S.

AMPLIFICÓN PCR. - Se amplificó las regiones de interés utilizando el ADN genómico extraído de cada muestra. Se utilizaron primers específicos acorde a las necesidades establecidas en la hoja de registro de muestras BSRT-2403-0003-UPEC_KJURADO. Con este paso identificamos la presencia o ausencia de los microorganismos de nuestro interés. De igual forma, se realiza el primer lavado usando perlas magnéticas para purificar el amplicón 16S, región V3-V4 de primers libres y especies de dímeros de primers

INDEX PCR. - Este proceso se conoce como la preparación de librerías y consiste en la adición de índices en cada extremo de los amplicones anteriormente obtenidos. Los índices son secuencias únicas que se asignan a todos los amplicones de una misma muestra para poder distinguirlos de los amplicones de otras muestras, lo que permite secuenciar múltiples muestras en paralelo y obtener datos independientes para cada una. Se realiza el segundo lavado usando perlas magnéticas para limpiar la biblioteca final. Finalmente, las librerías purificadas son cuantificadas y cualificadas para determinar su idoneidad para ser secuenciadas.

ANÁLISIS DE DIVERSIDAD. - Los archivos FastQ, son sometidos a un proceso de calidad y filtrado para garantizar la clasificación taxonómica. Para la clasificación taxonómica se utiliza una implementación de un algoritmo de alto rendimiento del clasificador Ribosomal Database Project (RDP) descrito en Wang Q. et al et al (<http://dx.doi.org/10.1128%2FAEM.00062-07>). La base de datos utilizada es RefSeq RDP 16S v3, basada en un conjunto de archivos FASTA de: <https://benjjneb.github.io/dada2/training.html>. Secuencias del gen 16S rRNA con formato DADA2 para bacterias y arqueas (Versión 2).

Acceda al análisis y datos crudos en el siguiente vínculo: <https://basespace.illumina.com/s/BbJiR1RBjR5p>

Es necesario poseer una cuenta en la plataforma BaseSpace (Illumina) para poder acceder a los datos. De no contar con una cuenta personal, realice el registro como usuario nuevo.

Nota: Toda la información que se presenta en este informe es de propiedad del cliente. BioSequence Ecuador mantiene temporalmente dicha información en la cuenta Base Space (Illumina) de su propiedad hasta que se haga la transferencia de los datos a la cuenta del cliente. Posterior a dicho evento BioSequence no tendrá acceso alguno a la información provista.

4. LIMITACIONES DE LA PRUEBA

La naturaleza de las muestras y los procesos de extracción pueden afectar la calidad de los datos crudos generados por nuestro laboratorio. Tal limitación puede generar los siguientes resultados, pero no se encuentran limitadas a:

- Regiones con baja o nada de cobertura.
- Regiones con problemas para el mapeo.
- Errores de falsos positivos y falsos negativos generados en los procesos de laboratorio.

Esto se debe a factores como: baja cantidad de material genético, material genético degradado, condiciones de almacenamiento y transporte de muestras, método de extracción inadecuado, tipo de muestra, presencia de contaminantes entre otros.

1. La tecnología NGS tiene la dificultad de detectar de manera óptima regiones altamente repetitivas como variaciones en número de copias, deleciones o inserciones (>5pb), repeticiones cortas en tándem (STR) y otras variantes complejas. Se requiere pruebas adicionales para la detección de estas regiones.
2. Los análisis bioinformáticos se apoyan en diversas bases de datos tanto públicas como privadas que se alimentan día a día, por lo que los resultados entregados se basan en la información disponible en estas fuentes. La lista de las fuentes utilizadas se menciona en la metodología.
3. Durante el análisis de los datos genéticos existen variantes cuya función es desconocida tanto en la literatura científica como médica, por lo cual para su reporte se requiere futuras investigaciones y la discreción de los profesionales.
4. Esta prueba no se considerada como una prueba de diagnóstico definitiva, los resultados entregados son de uso informativo y orientativo que permite la identificación del origen genético de una enfermedad. Como toda prueba está sujeta a la presencia de falsos positivos o falsos negativos, por lo que se requiere de análisis complementarios para tomar cualquier decisión respecto a un tratamiento médico. Estos resultados deben ser tratados por un médico calificado.

5. Los resultados de la prueba se basan en evidencia científica disponible al momento. Cambios en la interpretación de dichos resultados pueden ocurrir conforme al avance de la investigación en este campo.

5. DESCARGO DE RESPONSABILIDAD

BIOSEQUENCE S.A.S. garantiza el procesamiento de las muestras y la entrega de resultados acorde al Sistema de Gestión de Calidad de la compañía. Este sistema está basado en normas nacionales e internacionales y reconoce que toda la información entregada es de uso exclusivo del CONTRATANTE. Por lo cual, BIOSEQUENCE S.A.S. y sus funcionarios, se deslindan de responsabilidades civiles y penales respecto al uso e interpretación que el CONTRATANTE y sus funcionarios den a los datos genéticos y genómicos entregados.

Nota: Toda la data cruda y los análisis primario se mantienen en la cuenta de Base Space (Illumina) de BIOSEQUENCE S.A.S. hasta la transferencia de los datos del proyecto a la cuenta del cliente. Posterior a dicho evento, BIOSEQUENCE S.A.S. no tendrá acceso alguno a dicha información.

6. REFERENCIAS

- Illumina, Inc. (2023). 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation.
- ZymoResearch, Inc. (2023). Quick-DNA™ Fecal/Soil Microbe Miniprep Kit



Realizado por: JMBS

Pag: 3 de 3

☎ 096 002 4672 ✉ atencionalcliente@biosequenceec.com 📍 Checoslovaquia y Eloy Alfaro | Quito - Ecuador

Página 4 de 4
Reporte: BSRT-2403-0003-UPEC_KJURADO
Fecha: 07/02/2024



Atentamente,

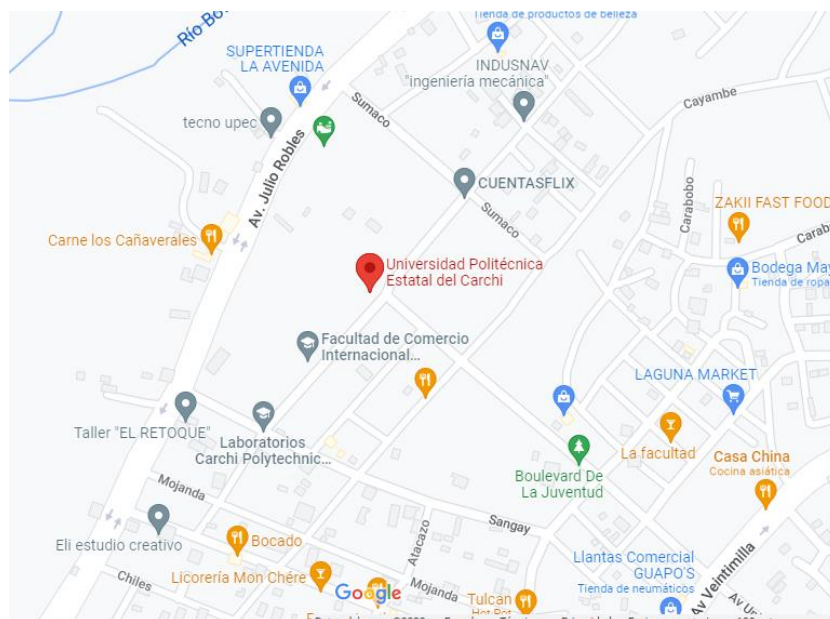


Luis Felipe Urresta
Ingeniero en Biotecnología
BIOSEQUENCE S.A.S

Anexo 17. Ubicación geográfica de la UPEC

Figura 28.

Ubicación geográfica de la UPEC



Anexo 18. Materia prima de la chicha de jora (maíz amarillo)

Figura 29.

Materia prima de la chicha de jora (maíz amarillo)



Anexo 19. Maíz germinado (jora)

Figura 30.

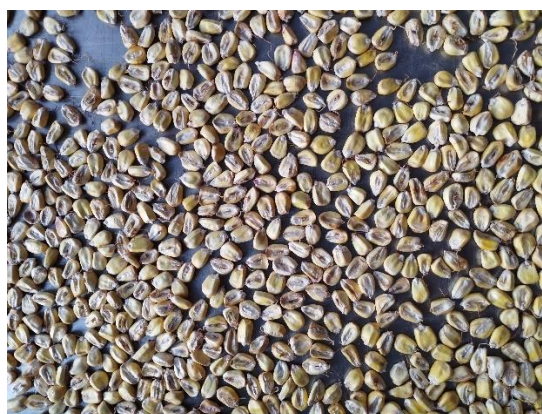
Maíz germinado (jora)



Anexo 20. Jora seca

Figura 31.

Jora seca



Anexo 21. Jora tostada

Figura 32.

Jora tostada



Anexo 22. Joras molidas

Figura 33.

Joras molidas



Anexo 23. Cocción de hierbas aromáticas

Figura 34.

Cocción de hierbas aromáticas



Anexo 24. Cocción de la chicha de jora tostada y sin tostar

Figura 35.

Cocción de la chicha de jora tostada y sin tostar



Anexo 25. Fermentación de la chicha de jora

Figura 36.

Fermentación de la chicha de jora

