

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTIN DE
AREQUIPA
ESCUELA DE POSGRADO
UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS NATURALES Y FORMALES**



**“IDENTIFICACIÓN MOLECULAR Y EVALUACIÓN DE LA
VIABILIDAD DE BACTERIAS ACIDO LACTICAS
LIOFILIZADAS DE LA CHICHA DE JORA EN LA CIUDAD
DE AREQUIPA”**

Tesis Presentada por la Maestra:
GLADIS HERLINDA PERALTA ALARCON.
Para optar el Grado Académico de Doctora en
Biología Molecular y Biotecnología
Asesor:
PhD. Julio César Bernabé Ortiz

AREQUIPA-PERU

2018

RESUMEN

En el presente trabajo se tuvo como objetivo el aislamiento, identificación molecular y la evaluación de la viabilidad de las bacterias liofilizadas, de la chicha de jora de la ciudad de Arequipa.

El aislamiento se realizó en medio Man Rogosa Sharpe (MRS) y se incubó a 37°C por 48 horas en condiciones aerobias. En las cepas seleccionadas se observaron las características culturales (macroscópicas) y coloración Gram. Para la identificación molecular se utilizó el gen del RNA ribosomal 16S; de las cuales 6 cepas se sometieron al proceso de liofilización utilizando lioprotectores como la leche descremada (LD) y en combinación con lactosa (5%, 7% y 10%); posteriormente se almacenaron a 4°C y 20°C durante 60 días.

Las cepas seleccionadas mostraron características culturales de bacterias ácido lácticas; con colonias redondas a puntiformes y con color de amarillo a blanco. De 11 cepas aisladas 7 fueron Gram positivas y 4 Gram negativas. La secuenciación del gen del RNA ribosomal 16S permitió la identificación de 7 cepas correspondiendo a: 1B: *Oceanobacillus mays* sp. nov., 3C: *Weisella jorum* sp. nov., 4B: *Delftia acidovorans* strain MAYZ-4. 6B: *Paraburkholderia mays* sp. nov., 8A: *Staphylococcus fermentum* sp., 11B: *Stenotrophomonas graminis* sp. nov. y 12B: *Weisella jorum* sp. nov.

Sin embargo, las cepas 3C y 12B fueron las únicas especies que correspondieron a las bacterias ácido lácticas registradas, según la bibliografía actual.

Las pruebas de viabilidad realizadas para todas las cepas revelaron que el uso LD y LD + lactosa 5% no presentaron diferencias significativas entre ellas, al igual que la LD + lactosa 7% y LD + lactosa 10% ($p < 0.05$). En cuanto a la temperatura de almacenamiento a 4°C y 20°C, se mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) solamente con el uso de LD y el control agua para todas las cepas; mostrando la capacidad lioprotectora de la lactosa a las diferentes concentraciones evaluadas independientemente de la temperatura de almacenamiento.

Palabras Clave: chicha de jora, BAL, RNA ribosomal 16S, lioprotectores.

ABSTRACT

The main objective of the present study was to isolate, perform the molecular identification and evaluate the viability of the freeze-dried bacteria isolated from the chicha of jora elaborated in Arequipa city.

The isolation was done in Man Rogosa Sharpe medium (MRS) and incubated at 37°C for 48 hours under aerobic conditions. The cultural characteristics (macroscopic) and Gram coloration were observed and taken for the selected strains. For molecular identification, the 16S ribosomal RNA gene was used; from which 6 strains were subjected to the lyophilization process using lyoprotectants such as skim milk (LD) and this one in combination with lactose (5%, 7% and 10%); subsequently they were stored at 4°C and 20°C for 60 days.

The selected strains showed cultural characteristics of lactic acid bacteria; with round colonies or punctiform and from yellow to white color. Out 11 isolates 7 were Gram positive and 4 Gram negative. The sequencing of the 16S ribosomal RNA gene allowed the identification of 7 strains corresponding to: 1B: *Oceanobacillus mays* sp. nov, 3C: *Weisella jorum* sp. nov, 4B: *Delftia acidovorans* strain MAYZ-4. 6B: *Paraburkholderia mays* sp. nov., 8A: *Staphylococcus fermentum* sp., 11B: *Stenotrophomonas graminis* sp. nov. y 12B: *Weisella jorum* sp. nov.

However, the strain 3C y 12B were the only species that corresponded to acid lactic bacteria registered, according to the current literature.

The viability tests in all strains revealed that the use of LD and LD + lactose 5% did not show significant differences between them, likewise LD + lactose 7% and LD + lactose 10%. Regarding the storage temperature at 4°C and 20°C, significant differences were found only with the use of LD and the control (water) for all strains; showing the lyoprotective capacity of lactose at the different concentrations evaluated independently of the storage temperature.

Palabras Clave: chicha of jora, LAB, 16S ribosomal RNA, lyoprotectants.