



**UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**RECURSOS NATURALES Y DEL AMBIENTE**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**TEMA:**

EVALUACIÓN DE DIFERENTES MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE EXTRACTOS DE UVILLA (*Physalis Peruviana L.*) Y SU ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA SOBRE BACTERIAS PATÓGENAS

Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Ingeniería Agroindustrial.

**AUTORES**

María Magdalena López Estrada

Ángel Gregorio Yanchaliquin Quishpe

**DIRECTORA**

Dra. C. María Bernarda Ruilova Cueva, PhD.

**Guaranda – Ecuador**

**Noviembre – 2017**

**EVALUACIÓN DE DIFERENTES MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE  
EXTRACTOS DE UVILLA (*Physalis peruviana L.*) Y SU ACTIVIDAD  
ANTIMICROBIANA SOBRE BACTERIAS PATÓGENAS**

REVISADO Y APROBADO POR:

.....  
DRA. C. MARÍA BERNARDA RUILOVA CUEVA PhD  
**DIRECTORA**

.....  
ING. VÍCTOR DANILO MONTERO SILVA Mg.  
**BIOMETRISTA**

.....  
ING. SONIA MARIA DEL CARMEN SALAZAR RAMOS Mg.  
**REDACCIÓN TÉCNICA**

## **DECLARACIÓN DE AUTORÍA**

Nosotros, López Estrada María Magdalena CI: 020202443-6 y Yanchaliquin Quishpe Ángel Gregorio CI: 020210234-9 declaramos que el trabajo aquí escrito es de nuestra autoría, este documento no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas del autor (es).

La Universidad Estatal de Bolívar, puede hacer uso de los derechos de publicación correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la ley de propiedad intelectual, su reglamentación y la normativa institucional vigente.

**LÓPEZ ESTRADA  
MARÍA MAGDALENA  
CI: 020202443-6**

**YANCHALIQUIN QUISHPE  
ÁNGEL GREGORIO  
CI: 020210234-9**

**DRA. C. MARÍA BERNARDA RUILOVA CUEVA, PhD  
DIRECTORA  
CI: 070118943-3**

**ING. SONIA MARIA DEL CARMEN SALAZAR RAMOS Mg.  
REDACCIÓN TÉCNICA  
CI: 020093300-1**

## **DEDICATORIA**

Este trabajo está dedicado con todo mi corazón a los seres que me dieron apoyo incondicional en todo momento especialmente a mi verdadero amor, mi madre Elva Estrada Garófalo, quien con su amor, confianza, cariño, ejemplo y sabiduría ha contribuido para alcanzar todos los objetivos que me he propuesto en la vida.

**Magdalena**

Un sueño alcanzado es un objetivo más que me llena de éxitos a mi persona y a mi familia, y con la bendición de Dios dedico este trabajo:

A mi madre en especial María Juana Quishpe Gómez que desde el cielo guía cada paso que doy.

A mi hermano Jorge Yanchaliquin y su esposa Martha Taris por sus consejos, porque nunca dejaron de apoyarme y confiar en mí.

A mi hermana Carmelina Yanchaliquin y su esposo José Tiban que me apoyaron incondicionalmente para culminar con éxito una meta más.

A mis hijos Miguel Ángel, Angie Valentina y a mi esposa Consuelo Estefanía por ser mi inspiración y mi complemento de vida.

**Ángel**

## **AGRADECIMIENTO**

Los autores desean expresar su gratitud:

A la Universidad Estatal de Bolívar, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Ingeniería Agroindustrial por habernos recibido en su seno y permitirnos fortalecer nuestros conocimientos; a los docentes y facilitadores académicos que aportaron en nuestra información.

Faltaría hojas para agradecer de la forma que realmente se merecen a las personas que me ayudaron a concluir este trabajo, lógicamente a Dios por darme la salud, a mi madre, hermanos, sobrina quien es la razón, fuerza y motor que impulsa cada paso de mi vida.

En especial a mi madre María Juana que desde el cielo guía mi camino para seguir cumpliendo metas.

A mi hermano Jorge y su esposa Martha y a mi hermana Carmelina y su esposo José quienes, con su apoyo incondicional han sido el motor para seguir cumpliendo mis objetivos.

De manera muy especial a nuestra Directora Dra. C. María Bernarda Ruilova Cueva PhD, por su apoyo incondicional y desinteresado para poder culminar con esta investigación.

A nuestro tribunal conformado por el Ing. Víctor Danilo Montero Silva. Mg, en el Área de Biometría, Ing. Sonia Salazar Ramos Mg, Área de Redacción Técnica, PhD Fabián Bayas, nuestro mentor, por entregar sus conocimientos impartidos que nos han permitido terminar con éxito esta investigación.

**Magdalena**

**Ángel**

## ÍNDICE DE CONTENIDO

DESCRIPCIÓN	PAG.
I. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....	1
II. PROBLEMA.....	3
III. MARCO TEÓRICO.....	4
3.1. Generalidades de la uvilla.....	4
3.1.1. Origen, Historia y distribución geográfica de la uvilla (Género <i>Physalis L.</i> ).....	4
3.1.2. Taxonomía.....	5
3.1.3. Variedades.....	5
3.1.4. Producción Nacional de Uvilla.....	6
3.1.5. Cosecha y Postcosecha.....	6
3.1.6. Grado de Madurez de la Uvilla.....	7
3.1.7. Aplicaciones Agroindustriales de la Uvilla.....	8
3.1.8. Composición nutricional de la Uvilla.....	10
3.1.9. Propiedades.....	11
3.1.10. Estudios fitoquímicos de la Uvilla.....	11
3.2. Extractos Vegetales.....	12
3.2.1. Métodos de Extracción.....	13
3.2.2. Clasificación de los Extractos Vegetales.....	13
3.3. Liofilización.....	14
3.4. Metabolito Secundarios.....	15
3.5. Plantas con actividad antimicrobiana.....	16
3.6. Microorganismos Patógenos en la Carne.....	17
3.6.1. <i>Escherichia Coli spp.</i> .....	18

3.6.2.	<i>Listeria spp</i> .....	19
3.6.3.	<i>Salmonella spp</i> .....	19
3.6.4.	Crecimiento Bacteriano.....	20
IV.	MARCO METODOLÓGICO.....	22
4.1.	Ubicación del experimento.....	22
4.2.	Zona de vida.....	23
4.3.	Material experimental.....	23
4.3.1.	Material de oficina.....	23
4.3.2.	Materiales de campo.....	23
4.3.3.	Materiales de laboratorio.....	24
4.3.4.	Reactivos.....	24
4.4.	Métodos.....	25
4.4.1.	Diseño experimental.....	25
4.4.2.	Esquema del experimento.....	25
4.4.3.	Características del experimento.....	26
4.4.4.	Tipos de diseño experimento.....	26
4.4.5.	Análisis estadístico.....	27
4.4.6.	Análisis estadístico .....	27
4.5.	Mediciones experimentales.....	28
4.5.1.	En la materia prima.....	28
4.5.1.1.	Potencial hidrogeno.....	28
4.5.1.2.	Acidez titulable.....	28
4.5.1.3.	Grados °Brix.....	28
4.5.2.	En los extractos.....	28

4.5.2.1.	Potencial hidrógeno.....	28
4.5.2.2.	Volumen.....	28
4.5.2.3.	Actividad antimicrobiana.....	29
4.5.2.4.	Cinética de crecimiento.....	29
4.5.3.	Descripción del proceso.....	30
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
5.1.	Análisis Realizados a la Materia Prima.....	35
5.2.	Análisis a los Extractos.....	44
5.3.	Actividad antimicrobiana de los extractos de uvilla .....	51
5.4.	Curva de Crecimiento.....	52
VI.	COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS.....	63
6.1.	Hipótesis nula.....	63
6.2.	Hipótesis alternativa.....	63
6.3.	Análisis de comprobación de la hipótesis.....	63
VII.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	66
7.1.	CONCLUSIONES.....	66
7.2.	RECOMENDACIONES.....	67
	BIBLIOGRAFÍA.....	68
	ANEXOS	

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Tabla N°</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>	<b>Pág.</b>
1	Composición nutricional de la uvilla.....	10
2	Estudios fotoquímicos de la uvilla.....	11
3	Localización del experimento.....	22
4	Situación geográfica y climática.....	22
5	Factores en estudio a desarrollar en la investigación.....	25
6	Descripción de los factores de estudio.....	26
7	Grados de libertad del diseño experimental propuesto.....	27
8	Resultados de parámetros físico-químicos de la uvilla.....	35
9	Resultados de respuesta experimental pH realizados a los tratamientos.....	36
10	Análisis de varianza para la respuesta experimental pH.....	37
11	Prueba de Tukey al 5 % para el pH debida al factor A.....	38
12	Prueba de Tukey al 5 % para el pH debidas al factor B.....	39
13	Prueba de Tukey al 5 % para el pH debidas al factor C.....	40
14	Prueba de Tukey al 5 % para el pH debida a la interacción AB...	41
15	Prueba de Tukey al 5 % para el pH debida a la interacción AC...	42
16	Prueba de Tukey al 5 % para el pH debida a la interacción BC...	42
17	Prueba de Tukey al 5 % para el pH del extracto obtenido a la interacción ABC.....	43
18	Volumen (ml) de extracto obtenido en los diferentes tratamientos.....	44

19	Análisis de varianza para la respuesta experimental volumen.....	44
21	Prueba de Tukey al 5 % para el volumen de extracto debido al factor B.....	46
22	Prueba de Tukey al 5% para el volumen de extracto debido al factor C.....	47
23	Prueba de Tukey al 5% para el volumen de extracto debido a la interacción AB.....	48
24	Prueba de Tukey al 5% para el volumen de extracto obtenido debido a la interacción AC.....	49
25	Prueba de Tukey al 5% para el volumen de extracto obtenido a la interacción BC.....	49
26	Prueba de Tukey al 5 % para el volumen de extracto obtenido a la interacción ABC.....	50
27	Resultados de antibiograma de discos - placa, realizados a los tres tipos de bacterias aisladas de carne expresados en mm.....	50
28	Valores de absorbancia obtenidos de pruebas cromatografías en relación al tiempo.....	53
29	Cinética de crecimiento bacteriano.....	54

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

### DESCRIPCION

Gráfico N°		pág.
1	Comportamiento del factor A en relación al pH.....	38
2	Comportamiento del factor B en relación al pH.....	39
3	Comportamiento del factor C en relación al pH.....	41
4	Comportamiento del factor A en relación al volumen de extracto obtenido.....	46
5	Comportamiento del factor B en relación al volumen de extracto.....	47
6	Comportamiento del factor C en relación al volumen de extracto obtenido.....	48
7	Curva de crecimiento de <i>Listeria spp.</i> aislada en carne de res vs tiempo.....	54
8	Curva de crecimiento de <i>Listeria spp.</i> aislada en carne de cerdo vs tiempo.....	55
9	Curva de crecimiento de <i>Listeria spp.</i> aislada en carne de pollo vs tiempo.....	56
10	Control de crecimiento de <i>listeria spp.</i> .....	56
11	Curva de crecimiento de <i>E coli spp.</i> aislada en carne de res vs tiempo.....	57
12	Curva de crecimiento de <i>E coli spp.</i> aislada en carne de cerdo vs tiempo.....	58

13	Curva de crecimiento de <i>E coli spp.</i> aislada en carne de pollo vs tiempo.....	58
14	Control de crecimiento de <i>E. coli spp.</i> .....	59
15	Curva de crecimiento de <i>Salmonella spp.</i> aislada en carne de pollo vs tiempo.....	60
16	Curva de crecimiento de <i>Salmonella spp.</i> aislada en carne de cerdo vs tiempo.....	60
17	Curva de crecimiento de <i>Salmonella spp.</i> aislada en carne de pollo vs tiempo.....	61
18	Control de crecimiento de <i>salmonella spp.</i> .....	61
19	Distribución F para <i>Listeria spp.</i> .....	64
20	Distribución F para <i>E coli spp.</i> .....	64
21	Distribución F para <i>Salmonella spp.</i> .....	64

## ÍNDICE DE ANEXOS

### DESCRIPCION

#### Anexo N°

- 1 Mapa de ubicación de la investigación.
- 2 Resultados de análisis físico-químicos
- 3 Esquema del experimento
- 4 Base de datos
- 5 Fotografías
- 6 Glosario de términos

## RESUMEN

Esta investigación se desarrolló en la Universidad Estatal de Bolívar, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Ingeniería Agroindustrial. Se evaluó los diferentes métodos de obtención de extractos de uvilla y su actividad antimicrobiana sobre bacterias patógenas aisladas de carne, estableciendo como factores de estudio: los métodos de extracción, con sus niveles en estado fresco y liofilizado, grado de madurez, con sus niveles grado tres y grado cinco y tipos de solventes con sus niveles, etanol 95 % y agua destilada. En los extractos obtenidos, se midió el pH, acidez, determinación de la actividad antimicrobiana y la cinética de crecimiento. El grado de madurez fue establecido según la norma técnica ecuatoriana INEN 2485: 2009; se consideró un grado de madurez en la escala colorimétrica 3 (semi-maduro) y 5 (madura), para conocer la influencia del estado de madurez en el aporte de componentes antimicrobianos.

La extracción con etanol fue el proceso más eficiente pues se obtuvo mayores halos de inhibición que en el extracto acuoso, éste solvente orgánico retuvo de mejor manera los agentes bioactivos de la uvilla. La eficiencia antimicrobiana del extracto de uvilla fue probada sobre bacterias patógenas presentes en 3 tipos de carne: cerdo, pollo y res; obteniéndose que los extractos etanólicos tenían actividad antimicrobiana y específicamente el tratamiento T7: Liofilizado + 5gr de frutos maduros (escala 5) +100 ml de Etanol al 95 %, presentó mejores resultados en la técnica antibiograma de discos-placa, y los extractos acuosos no presentaron actividad antimicrobiana. Fue establecida la cinética de crecimiento de las bacterias, en la misma hubo una acción efectiva del extracto etanólico de uvilla el mejor tratamiento T7 que impidió que las bacterias patógenas tengan una fase de crecimiento exponencial ya que a medida que avanzó el tiempo las bacterias no se duplicaron, teniendo una velocidad de crecimiento mínima lo que provocó que la muerte de las bacterias sea más rápida a partir de las 7 horas de crecimiento.

**Palabras claves:** Uchuva, extractos acuosos, extractos etanólicos crecimiento de las bacterias.

## SUMMARY.

This research was developed at the State University of Bolivar, Faculty of Agricultural Sciences, Natural Resources and the Environment, Agroindustrial Engineering Career. The different methods of obtaining uvilla extracts and their antimicrobial activity on pathogenic bacteria isolated from meat were evaluated, establishing as study factors: the extraction methods, with their levels in fresh and lyophilized state, degree of maturity, with their degree levels three and five grade and types of solvents with their levels, 95 % ethanol and distilled water. In the extracts obtained, pH, acidity, determination of antimicrobial activity and growth kinetics were measured. The degree of maturity was established according to the Ecuadorian technical norm INEN 2485: 2009; a degree of maturity was considered in the colorimetric scale 3 (semi-mature) and 5 (mature), to know the influence of the state of maturity in the contribution of antimicrobial components.

The extraction with ethanol was the most efficient process since it obtained greater halos of inhibition than in the aqueous extract, this organic solvent retained in a better way the bioactive agents of the grapevine. The antimicrobial efficiency of grapevine extract was tested on pathogenic bacteria present in 3 types of meat: pork, chicken and beef; obtaining that the ethanolic extracts had antimicrobial activity and specifically the T7 treatment: Lyophilized + 5gr of mature fruits (scale 5) +100 ml of 95% Ethanol, presented better results in the plate-plate antibiogram technique, and the aqueous extracts did not present antimicrobial activity. The growth kinetics of the bacteria was established, in which there was an effective action of the ethanol extract of uvilla, the best T7 treatment that prevented the pathogenic bacteria from having an exponential growth phase since, as time went by, the bacteria did not grow. duplicated, having a minimum growth rate which caused the death of bacteria to be faster after 7 hours of growth.

**Key words:** Cape goose, aqueous extracts, ethanolic extracts, growth of bacteria.

# CAPITULO I

## 1. Introducción

Se puede afirmar que el uso de las plantas medicinales nació con el hombre. Esta práctica médica con plantas pasaba y se perfeccionaba de generación en generación, es así que a esta práctica se la denominó medicina tradicional hasta el siglo XVIII, se conocieron las propiedades curativas de las plantas, su efecto sobre el organismo y su modo de aplicación, desconociendo en muchas de los casos la composición y caracterización de sus principios activos. Con el desarrollo de las teorías de la evolución, herencia genética, el uso del microscopio y el nacimiento de ciencias como la Fitoquímica, fue posible el reconocimiento y el aislamiento de principios activos de muchas especies vegetales. La gran mayoría de los principios activos se han obtenido sintéticamente en laboratorios, para su posterior uso en la preparación de medicamentos químicos. Con el paso de los años, el consumo de medicamentos sintéticos se incrementó, desplazando cada vez más el uso directo de plantas medicinales, alejándose así de la medicina tradicional.

Una terapia antimicrobiana, segura y efectiva se enfrenta cada día a más retos. Pacientes inmunocomprometidos que no alcanzan a contrarrestar cuadros infecciosos, surgen día a día; bacterias, virus, hongos y protozoos presentan mecanismos defensivos que evaden el efecto de los fármacos de elección e incluso reaparecen más agresivos, lo cual se ha convertido en un problema de consecuencias impredecibles. Además, el desarrollo de nuevos agentes antibióticos como alternativa terapéutica, ha disminuido de forma considerable por el tiempo y costo que implican las etapas de investigación y desarrollo de estos medicamentos.

Numerosas investigaciones realizadas en distintas regiones del planeta, demuestran que las plantas medicinales constituyen un importante punto de partida en el descubrimiento de nuevos fármacos, tanto así, que aproximadamente el 25 % de los medicamentos prescritos mundialmente son de origen vegetal, y de los restantes, un significativo número son obtenidos por síntesis a partir de precursores naturales.

Ecuador cuenta con una extensa biodiversidad vegetativa, rica en componentes bioactivos de gran interés para la industria farmacéutica, uso y aprovechamiento de especies vegetales que se encuentran en el país, los centros de investigaciones y desarrolló científico, en cumplimiento de sus objetivos misionales, contribuye con la generación del conocimiento en cuanto al uso y el aprovechamiento de especies vegetales presentes en el Ecuador.

Este trabajo investigativo tuvo como objetivo general: Evaluar los diferentes métodos de obtención de extractos a partir de uvilla (*Physalis peruviana L.*) y su actividad antimicrobiana sobre bacterias patógenas y como objetivos específicos los siguientes:

- Determinar el grado de madurez de la uvilla y establecer los protocolos para la obtención de los extractos (etílico y acuoso).
- Probar la eficiencia antimicrobiana de los extractos obtenidos de uvilla (*Physalis peruviana L.*), sobre bacterias patógenas.
- Establecer la cinética de crecimiento de las bacterias patógenas aisladas en carne.

## CAPITULO II

### 2. Problema

#### 2.1. Planteamiento de problema

El presente trabajo de investigación tuvo por objeto la evaluación de diferentes métodos de obtención de extractos de uvilla (*Physalis peruviana L.*) y su actividad antimicrobiana sobre bacterias patógenas; con el fin de proporcionar datos y suministrar información actualizada que pueda ser utilizada en estudios posteriores.

La necesidad del ser humano por curarse, o tener alimentos libres de contaminaciones provocados por microorganismos, han llevado a un primer plano, el interés de conocer sobre los efectos provocados por los fármacos sintéticos, haya preferencia por el uso de productos o fármacos de origen natural, ya que son considerados beneficiosos para la salud.

Con este antecedente, esta investigación es de mucha importancia, puesto que potenciará el diseño y desarrollo de nuevos productos farmacológicos de origen natural a partir de plantas que se encuentra en la biodiversidad ecuatoriana, como el caso de la uvilla (*Physalis peruviana L.*), utilizada en la obtención de extractos acuosos y etanólicos y su aplicación sobre bacterias patógenas (*E. coli spp.*, *Salmoellia spp.*, *Listeria spp.*) y la comprobación de su efectividad como agente antimicrobiano, permitirá el aprovechamiento de las ventajas de este producto a fin de contribuir con soluciones a problemas que existen en la actualidad con los antibióticos genéricos, a través del uso de fármacos de origen natural.

Basado en lo expuesto, esta investigación aportará conocimiento sobre las características bacterianas de la uvilla, el cual constituye un paso preliminar que puede ser ampliado en futuras investigaciones, contribuyendo al desarrollo de la industria farmacológica vegetal.

## CAPITULO III

### 3. Marco Teórico

#### 3.1 Generalidades de la Uvilla

##### 3.1.1 Origen, Historia y distribución geográfica de la uvilla (Género *Physalis L.*)

La Uchuva o uvilla (*Physalis peruviana L.*), es una planta originaria del Perú, entre Chile y Colombia crece como una planta silvestre o semi-silvestre en las zonas altas de 1500 a 3000 m.s.n.m. En lo que se refiere a su ecofisiología, en Ecuador prefiere sitios entre 1800 y 2800 m.s.n.m., con temperaturas promedio de 13 y 18 ° C. La planta no resiste temperaturas bajas, después de una helada de corta incidencia rebrota basalmente. La uvilla fue una fruta conocida por los incas es redonda, ovoide, del tamaño de una uva grande, con piel lisa, brillante y de color amarillo, dorado, naranja; o verde según la variedad. Su pulpa es jugosa con semillas amarillas pequeñas y suaves que pueden comerse. Cuando la flor cae el cáliz se expande, formando una especie de capuchón o vejiga muy fina que recubre a la fruta. Cuando la fruta está madura, es dulce con un ligero sabor agrio. (Aristizabal, A. 2013).

La uvilla es una fruta casi silvestre y de producción artesanal, hasta hace unos pocos años en el mercado nacional y la posibilidad de exportaciones han incidido para que se realice su producción a nivel comercial. (Molina, J. 2014).

El Ecuador exporta esta fruta a los mercados del hemisferio norte con buenas perspectivas de incremento de volúmenes. Un aspecto que todavía no se ha explotado en nuestro país, es la posibilidad de la extracción de calcio, por el altísimo contenido de este mineral que tiene la fruta. (Fischer, G. *et al.*, 2011).

A la uvilla se la conoce con varios nombres en los diferentes países de América y Europa. Sin embargo, en el mercado internacional en general se la conoce como

*physalis*. Así, en Perú se la llama también capulli, motojobobo embolsado o capulí en Bolivia, toptopo o chuchuva; en Venezuela capulí o amor en bolsa; en Chile cereza del Perú; en México pohá en Hawái, etc. En Estados Unidos se le han asignado varios nombres, como ground /andean cherry, husk tomato, etc. En España la llaman alquequenje, en Alemania judaskirsche y en Francia coqueret du perou. Las zonas de mayor aptitud para este cultivo se ubican en el callejón interandino. (Fischer, G. *et al.*, 2011).

### 3.1.2. Taxonomía

Taxonomía de la uvilla (*Physalis peruviana* L.).

<b>Reino:</b>	plantae.
<b>Clase:</b>	angiospermae.
<b>Subclase:</b>	dicotyledoneae.
<b>Familia:</b>	Solanaceae.
<b>Orden:</b>	tubiflorea.
<b>Especie</b>	peruviana L.
<b>Nombre científico:</b>	Physalis peruviana.
<b>Género:</b>	Physalis L.
<b>Nombre común</b>	aguaymanto, tomatillo, uvilla, uchuva, capulí, etc.

Fuente: (García, D. 2015).

### 3.1.3. Variedades

En el caso de la uvilla, alrededor del mundo se ha desarrollado muchas variedades, en la actualidad en Ecuador no se ha mejorado genéticamente ningún eco tipo de (*Physalis peruviana* L), sin embargo, se puede hablar de diferentes materiales genéticos por sector de desarrollo de producto. De acuerdo a diversos agricultores consultados, se ha establecido cierto eco tipos que se desarrollan en Ecuador y son: (Juntamay, E. 2010):

- **Colombiano o keniano:** es una uvilla que se caracteriza por tener el fruto grande de color amarillento intenso, su concentración de ácidos cítricos es

menor que el del resto de materiales, sin embargo, por su aspecto fenotípico es altamente la demanda para los mercados de exportación.

- **Ambateño:** es una uvilla con fruto mediano de color entre verde y amarillo que tiene una alta cantidad de sustancias que le dan un sabor agridulce y aroma que destaca sobre el resto de eco tipos.
- **Ecuatoriana:** es eco tipo más pequeño de color amarillo intenso, es de mayor concentración de sustancias vitamínicas, su aroma es agradable.

Alrededor del mundo se cultivan variedades de uvilla tales como: Golden nugget o new Sugar Giant y de estados Unidos Peace, Giant Groundcherry, Goldenberry, Giallo Grosso, Giant, Giant Poha Berry, Golden Berry y Golden Berry-long ashton. (Fischer, G. *et al.*, 2011).

#### **3.1.4. Producción Nacional de Uvilla**

La producción nacional de uvilla registra un crecimiento de expansión constante, aunque pequeña, lo que hace suponer que sus perspectivas son promisorias y que puede convertirse en una excelente alternativa para diversificar las exportaciones. Las zonas óptimas para desarrollar cultivos de uvilla se encuentran en los valles del callejón interandino y en las estribaciones de las cordilleras de todas las provincias de la sierra ecuatoriana. (Torres, J. 2011).

Las estadísticas señalan que en el Ecuador tiene entre 300 y 350 hectáreas de uvilla. (Altamirano, M. 2010).

#### **3.1.5. Cosecha y Postcosecha**

La uvilla es una fruta que debe cosecharse madura desde la planta, por lo que se realiza de forma manual cortando los pedúnculos con una tijera. Su cosecha es escalonada, es decir que todas las semanas hay frutos para recolectar, aunque se

debe evitar cosechar los frutos cuando llueve, éstos deben estar completamente secos para un mejor almacenamiento. (Juntamay, E. 2010).

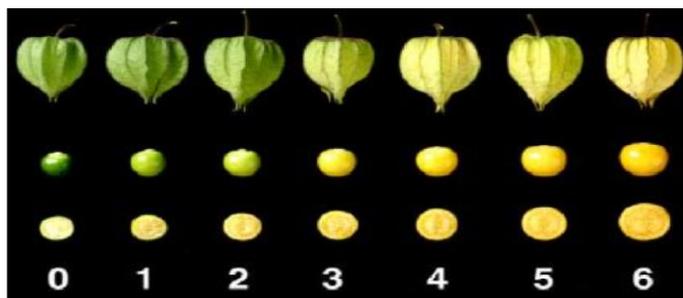
Esta fruta que es susceptible a los daños por manipulación, debe recibir un buen trato hasta que llegue a ser comercializada, el ciclo de cultivo del fruto desde la siembra hasta la cosecha dura aproximadamente entre 8 a 9 meses. (Medina, D. 2006).

Durante los primeros meses de cosecha la planta de uvilla da los más grandes frutos, con un desarrollo adecuado del cultivo y el manejo agronómico, la planta producirá uvillas de gran aceptación comercial en el lapso de un año. El estudio de las variables en postcosecha, como sólidos solubles totales, acidez, rendimiento en pulpa entre otros, determina aspectos importantes para determinar como el índice de madurez, calidad sensorial, calidad comercial y nutricional de las frutas. La variable en postcosecha dependen de diversos factores, tales como genéticos, climáticos y agro-culturales (típicos de cada región). Lo ideal es que las frutas posean un alto rendimiento en pulpa, un elevado valor de sólidos solubles totales expresados como °Brix y para algunos frutos es deseable alta acidez y características sensoriales como sabor, color, aroma y apariencia. (García, D. 2015).

### **3.1.6. Grado de Madurez de la uvilla**

El grado de madurez de las uvillas puede evaluarse visualmente según su coloración externa, que varía de verde a naranja a medida que madura el fruto. Su condición puede confirmarse determinando el contenido total de sólidos solubles. La variación en la coloración del capuchón no indica la madurez del fruto. (NTE INEN 2485, 2009).

**Figura 1:** Escala de madurez de la uvilla.



**Fuente:** (NTE INEN 2485, 2009).

### 3.1.7. Aplicaciones agroindustriales de la uvilla

En los últimos años se han desarrollado diversidad de alimentos a partir de uvilla, algunos por incorporación de compuestos bioactivos buscando una sinergia de los mismos con los nutrientes propios del fruto fresco, otros por aplicación de diferentes metodologías de deshidratación del fruto, evaluando la respuesta de aplicación de procesos físicos y químicos sobre la capacidad antioxidante, así como también el uso potencial de otra fuente de compuestos fisiológicamente activos presentes en la planta como materia prima para procesos posteriores. (Aristizábal, M. 2013).

En general, las aplicaciones se originan sobre la base de aquellos alimentos que proporcionan al organismo humano un beneficio adicional al que proporcionan los nutrientes tradicionales que contiene el alimento, estos son los alimentos funcionales. (Aristizábal, M. 2013).

En países vecinos la uvilla se ha constituido en un cultivo de exportación. En Perú es el segundo fruto de exportación después del banano, por su alto contenido en beta-carotenos y ácido ascórbico y provitamina A (entre 1000 y 5000 UI). (Aristizábal, M. 2013).

La uvilla pertenece a los frutos carotenogénicos, los cuales durante su maduración se colorean gradualmente hacia amarillo, naranja rojo. La uvilla es ampliamente utilizada en el tratamiento de enfermedades como malaria, asma, hepatitis,

dermatitis, reumatismo y como diurético. Su gran contenido de flavonoides y compuestos polifenólicos la hacen poseedora de propiedades antiinflamatorias y antioxidantes. (Juntamay, T. 2010).

El contenido de sólidos solubles en la uvilla alcanza alrededor de los 14° Brix. La acidez titulable de la uvilla es elevada. Este fruto posee un contenido promedio entre 1,3 y 1,8 %, expresado en ácido cítrico además la uvilla tiene un contenido de pectina intermedio respecto a las frutas más comunes. Entre los derivados que comienzan a encontrarse en los mercados de cadena están las pulpas, varios tipos de bebidas y productos azucarados y deshidratados. Ya se consiguen pulpas con o sin semilla conservadas mediante diferentes técnicas que emplean el frío o el calor como principios estabilizantes. De los productos azucarados se encuentra las uvillas en jarabe, salsas y compotas. Entre los concentrados se hallan las mermeladas, bocadillos y dulces. Con relación a los deshidratados, hay los tipos “pasa bocas” simples y los recubiertos con chocolate. (Fischer, *G. et al.*, 2011).

### 3.1.8. Composición Nutricional de la Uvilla

La uvilla es un fruto azucarado con un alto contenido de nutrientes (Tabla 1).

**Tabla 1: Composición nutricional de la uvilla.**

Componente		Uvilla	
Humedad (g/100 g).		81,26± 0,19	
Cenizas (g/100 g).		1,00 ± 0,01	
pH.		3,74 ± 0,003	
Ácido Titulable (g ac.cítrico/100 g).		1,26 ± 0,01	
Vitamina C (mg/100 g).		18,44 ± 0,51	
Sólidos Solubles (°Brix).		13,80 ± 1,03	
Azúcares Totales (g/100 g).		12,26 ± 0,05	
Azúcares Reductores (g/100 g).		4,67 ± 0,19	
Poli fenoles total (mg/g).		0,56 ± 0,00	
Carotenoides total (µg/g).		478,95 ± 0,19	
Capacidad Antioxidante. ORAC (µmol trolox/g).		6,73 ± 0,04	
Azúcares	Fructosa (g/100 g).	2,57 ± 0,00	
	Glucosa (g/100 g).	2,63 ± 0,01	
	Sacarosa (g/100 g).	3,44 ± 0,01	
Ácidos Orgánicos	Ac. Cítrico (mg/g).	8,96 ± 0,04	
	Ac. Málico (mg/g).	1,39 ± 0,05	
Minerales	Macro Elemento	Ca (µg/g).	56 ± 0,00
		Mg (µg/g).	2.005 ± 93,70
		Na (µg/g).	21 ± 0,93
		K (µg/g).	4.366 ± 74,96
		P (µg/g).	581 ± 0,00
	Micro Elemento	Cu (µg/g).	2 ± 0,00
		Fe (µg/g).	8 ± 0,13
		Mn (µg/g).	7 ± 0,00
	Zn (µg/g).	2 ± 0,53	

**Fuente:** (Medina, D. 2012). Contenido en 100g de muestra base seca.

### 3.1.9. Propiedades

La importancia de la uvilla (*Physalis peruviana L.*) se basa en el contenido de minerales y vitaminas elementos indispensables para el crecimiento, desarrollo y correcto funcionamiento de los diferentes órganos humanos; es una fuente de pro-vitaminas A y vitamina C, así como algunas vitaminas del complejo B (tiamina, niacina y vitamina B12), el contenido de proteína y fósforo son excepcionalmente altos, pero los niveles de calcio son bajos. (Juntamay, E. 2010).

### 3.1.10. Estudios fitoquímicos de la Uvilla

Dentro de los compuestos más investigados de uvilla (*Physalis peruviana L.*). Están los witanólidos, que probablemente son producidos por la planta para defenderse de los parásitos que la atacan. (Bernal, C. 2012).

**Tabla 2: Estudios Fitoquímicos de la uvilla**

Parte analizada	Tipo de compuesto	Compuestos aislados
Hojas	Witanólidos (30-34)	phyperunólido a phyperunólido b phyperunólido c phyperunólido d peruvianóxido phyperunólido e phyperunólido f 1,10-seco witaperuvina c 4β-hidroxiwitanólido e 2,3-dihidroxiwitanólido e visconólido witanólido e witanólido f witanólido s witafricanólido witaperuvina d fisalolactona fisalolactona b fisalolactona c 23-hidroxifisalolactona 3-o-β-d-glucopiranosido de fisalolactona b
	Otros esteroidales (35)	fisalina a perulactona perulactona b sitosterol 24-metilnocolesterol
	Flavonoides (36)	no especificados
Cálices	Witanólidos (37)	4β-hidroxiwitanólido e 28- hidroxiwitanólido e

Fruto	Glucósidos (38, 39)	1-o-trans-cinamoil- $\beta$ -d-glucopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -d-glucopiranososa (1s,2s)-1-fenilpropano-1,2-diol 2-o- $\beta$ -d-glucopiranosido p-ment-4(8)-ene-1,2-diol 1-o- $\alpha$ -l-arabinopiranosil-(1-6)- $\beta$ -d-glucopiranosido 1-fenilpropano-1,2-diol y p-ment-4(8)-ene-1,2-diol 3-o- $\beta$ -d-glucopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -d-glucopiranosido de etil3-hidroxi octanoato 3-o- $\beta$ -l-arabinopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -d-glucopiranosido de butil (3r)-hidroxibutanoato 3-o- $\alpha$ -l-arabinopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -d-glucopiranosido de butil(3s)-hidroxibutanoato
	Vitaminas (40)	$\alpha$ , $\beta$ y $\gamma$ -tocoferol vitamina k1 vitamina c vitamina a $\beta$ -caroteno ácidos grasos
	Witanólidos (26)	4 $\beta$ -hidroxiwitanólido e , witanólido e
	Alcaloides (41)	calisteginas a3, b1, b2, y c1
	Ésteres (42)	ésteres del ácido cinámico ácido ascórbico ácido 16-hidroxi oxohexadecanoico
Raíz	Alcaloides (43-48)	Figrina witalperuvina b witaperuvina c witaperuvina e witaperuvina f witaperuvina g witaperuvina h fisoperuvina n-n-dimetilisoperuvina tigloidina higrina
	Witanólidos (37)	4 $\beta$ -hidroxiwitanólido E
Planta entera	Witanólidos (49, 50)	17 $\beta$ -hidroxi-14,20-epoxi-1-oxo-[22R]-3 $\beta$ -[O- $\beta$ -D-glucopiranosil]-wita-5,24-dienolido 4 $\beta$ -hidroxiwitanólido E (20R,22R)-5 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,14 $\alpha$ ,20,27-pentahidroxi-1-oxowit-24-enólido (20S,22R)-5 $\beta$ ,6 $\beta$ -epoxy-4 $\beta$ ,14 $\beta$ ,15 $\alpha$ -trihidroxi-1-oxowit-2,24-dienólido
	Flavonoides (51)	Quercetina y campferol
	Alcaloides (29, 52, 53)	(+)-Fisoperuvina trigloidina 3- $\alpha$ -tigloiloxitropano (+)-physoperuvina ( $\pm$ )-physoperuvina (3-metilamino-cicloheptanona) sal del anión (+)-N,N-dimetilphysoperuvion (anión desconocido)

Fuente: (Bernal, C. 2012).

### 3.2. Extractos Vegetales

Los extractos vegetales se han definido como un concentrado obtenido por tratamiento de productos vegetales con solventes apropiados, tales como agua,

etanol o éter, de elementos solubles, constituidos por una mezcla de principios activos y sustancias inertes que se producen en la totalidad o de partes de una planta en estado fresco o seca. (Lizcano, A. *et al.*, 2008).

### 3.2.1 Métodos de Extracción

La extracción sólido-líquido es una operación que está presente prácticamente en todos los procesos tecnológicos relacionados con la industria química y médico farmacéutica; dentro de ésta, los métodos de extracción por maceración y la percolación o lixiviación son los más utilizados, los mismos se detallan a continuación:

- **Maceración:** El material crudo previamente triturado se pone en contacto con la cantidad suficiente de solvente (agua, etanol, etc.), en un tanque cerrado a temperatura ambiente durante 2-14 días. Puede utilizarse agitación. Posterior a este tiempo, la mezcla es filtrada y el material insoluble es lavado con el mismo solvente y los filtrados se mezclan para concentrar el extracto. La maceración es útil para la extracción de los principios activos solubles en frío.
- **Percolación o lixiviación:** El material crudo previamente triturado se pone en contacto con cantidad suficiente de solvente de forma tal que el solvente cubra la capa de sólido en el tanque percolador. El solvente se renueva de modo continuo manteniéndose un gradiente de concentración, el disolvente puro desplaza al que contiene la sustancia extraída sin ser necesario aplicar presión. La droga residual es prensada y el fluido obtenido es combinado con el percolado para concentrar el extracto. (Erazo, E. 2013).

### 3.2.2. Clasificación de los Extractos Vegetales

Dependiendo del grado de concentración de los extractivos, los extractos pueden clasificarse en: (Lizcano, A. *et al.*, 2008).

- Liofilizados
- Extractos fluidos o líquidos.
- Extractos semisólidos o blandos.
- Extractos secos.

### **3.3. Liofilización**

Es la deshidratación en frío y al vacío, el producto mantiene su calidad de manera excelente, ya que los procesos enzimáticos y microbiológicos se detienen instantáneamente por congelación ultrarrápida realizada antes del secado. Los alimentos deshidratados y liofilizados se caracterizan por haber pasado por un proceso en el que se ha eliminado la mayor parte de su contenido en agua, esto favorece la conservación del producto por más tiempo, y entre otras cosas, en algunos casos proporciona nuevas formas de consumo.

En la liofilización el alimento es previamente congelado, el agua pasa primero del estado líquido al sólido, y a continuación se somete a una desecación al vacío, es decir, se introduce en una cámara de vacío que separa el agua por sublimación o volatilización, pasando el agua del estado sólido al gaseoso sin pasar por el estado líquido.

El proceso de liofilización es lento y costoso, las máquinas liofilizadoras son caras, pero dan muy buenos resultados. El alimento liofilizado ofrece unas características más interesantes que el alimento deshidratado en cuanto a conservación y textura. Elimina mayor porcentaje de agua, pero no se elimina totalmente, altera menos las propiedades nutritivas del alimento y sobre todo o altera la composición, conservando los componentes bioactivos presentes como los metabolitos secundarios (Ruilova, A. *et al.*, 2016).

Los equipos de liofilización para este propósito tienen tres componentes: un mecanismo de congelamiento, una fuente de vacío y una trampa para el vapor de agua. (Malik, K. *et al.*, 2009).

### **3. 4. Metabolitos Secundarios**

Las plantas producen una diversidad de sustancias, producto del metabolismo secundario, algunas responsables de la coloración y aromas de flores y frutos, que son compuestos químicos de estructura relativamente compleja y de distribución más restringida y más característica de fuentes botánicas específicas, que los llamados metabolitos primarios; estos están universalmente distribuidos y participan en la actividad celular de todo ser viviente.

Actualmente, se ha demostrado que principalmente la mayoría de ellos participan en el mecanismo de defensa de las plantas. Entre estos últimos, se consideran a las fitoalexinas, los alelopáticos, por mencionar algunos. Estos metabolitos, llamados también fitoquímicos, fitoprotectores o compuestos bioactivos, permite una gama de usos en la medicina, cosmetología y en la agricultura, para producir nuevos agroquímicos naturales, como insecticidas, herbicidas, reguladores de crecimiento, entre otros.

En este contexto, los metabolitos secundarios vegetales presentan un gran valor desde el punto de vista social y económico. Del total de medicamentos aprobados entre el 83 al 94, el 6 % eran obtenidos directamente de especies vegetales y ese número continuó creciendo hasta los días de hoy.

Existen más de 2.000 fitoquímicos en las plantas, que se agrupan en clases de acuerdo a su función y sus características estructurales, de los cuales se considera que los terpenos, los fenoles y los tioles, son los más estudiados. En la uvilla están presentes compuestos como los carotenos.

Desde el punto de vista económico se puede mencionar los alcaloides indólicos, terpenoidicos vincristina (utilizado en el tratamiento de la leucemia) y vinblastina (usado en la terapia de corio-carcinoma y en la enfermedad de Hodgkins). Como estimación, cerca de 110.000 compuestos han sido identificados hasta el presente, siendo que de este total los terpenoides constituyen el mayor grupo

(33.000 compuestos), seguidos por los alcaloides (16.000 compuestos). Anualmente 4.000 nuevos compuestos de origen vegetal han sido relatados con una tendencia al crecimiento para este valor. Adicionalmente, metabolitos secundarios son utilizados en escala industrial para la producción de insecticidas, colorantes, saborizantes, aromatizantes y medicamentos.

Con respecto del alto valor económico de algunos de estos biofármacos, bajos niveles de productividad han sido usualmente encontrados en los sistemas de producción agrícola convencionales, ocurriendo por una serie de motivos. En general los metabolitos primarios y secundarios pueden tener actividad biológica determinada: medicinal, tóxica, alimenticia; puede tener aplicación casera o industrial, en síntesis, es necesario conocer los vegetales de nuestro país y darles un uso adecuado, una producción sustentable y sostenible; aprovechar y disfrutar de los recursos que la naturaleza nos ofrece (Quispillo, J. 2013).

### **3.5. Plantas con actividad antimicrobiana**

En trabajos publicados, se encuentra que la *Physalis peruviana L.* se ha utilizado en la medicina tradicional por sus propiedades anticancerígenas, antimicrobianas, antiinflamatorias, antipiréticas, diuréticas e inmunomoduladoras y para el tratamiento de enfermedades como malaria, asma, artritis, hepatitis y dermatitis, de las cuales algunas han sido validadas experimentalmente (Perry, 1980; Franco *et al.*, 2007; Chang *et al.*, 2008; Wu *et al.*, 2009).

Por su parte en el *Caesalpinia pulcherrima L.*, arbusto ornamental conocido como clavellino, han reportado múltiples usos en la medicina popular como antituberculoso, antiviral, espasmolítico, antimicrobiano, antiinflamatorio y analgésico, estas dos especies vegetales han sido objeto de investigación en muchos países (Chiang *et al.*, 2003; Rao *et al.*, 2005; Chanda and Baravalia, 2011; Hsu *et al.*, 2012). En este trabajo se evaluó el potencial efecto antibacteriano *in vitro* de extractos y fracciones obtenidas de los cálices de *P. peruviana* y de las flores y hojas de *C. pulcherrima*, empleando métodos de microdilución en caldo

establecidos por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio de los Estados Unidos de América (CLSI), determinaron los valores de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB), frente a cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*, *Klebsella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*. (Pérez, C. *et al.*, 2011).

Se investigó la actividad antimicrobiana in vitro de los extractos metanólicos, etanólicos e hidroalcohólicos de cuatro plantas: *Cassia reticulata* (planta entera), *Ilex guayusa Loes* (hojas), *Piper lineatum* (hojas), y *Terminalia catappa* (hojas). La actividad antimicrobiana se evaluó mediante el método de difusión en agar. Los microorganismos utilizados fueron las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli*; y los hongos *Candida albicans*, *Aspergillus niger* y *Microsporum canis*. De doce extractos investigados, ocho (67 %) presentaron actividad antimicrobiana significativa frente a *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* y uno (8 %) frente a *Escherichia coli*. (Julio, F. *et al.*, 2009).

Se evaluó la actividad antimicrobiana de los extractos etanólico y hexánico de hoja y corteza de cuatro plantas utilizadas como medicinales: guayaba agria (*Psidium friedrichsthalianum* L.), palo de sangre (*Pterocarpus hayesii* L.), chichimecate (*Tynanthus guatemalensis* L.) y ciruela (*Spondias purpurea* L.). La actividad antimicrobiana se evaluó contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 y *Bacillus cereus* ATCC 11778, mediante el método de difusión en agar. (Julio, F. *et al.*, 2009).

### **3.6. Microorganismos Patógenos en la Carne**

Muchas bacterias se desarrollan en la carne entre ellas tenemos *E. coli*. Las bacterias *Staphylococcus aureus*, *C. perfringens*, *Campylobacter spp.*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella spp.*, que se encuentran en un bajo número sobre las superficies de las carnes crudas, sin embargo, pueden aumentar por una manipulación inadecuada. Las más comunes que se transmiten por la carne son

*Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus* y *C. perfringens*. La carne de cerdo es un vector importante en la transmisión de *Campylobacter jejuni* y *enterocolitica*. La *Listeria pps* sobrevive a temperatura reducida en la carne procesada porque es osmóticamente tolerante y acumula solutos compatibles en el citosol. Es imposible solucionar el problema de microorganismos patógenos en la carne cruda. Ninguno de los procedimientos disponibles actualmente puede proporcionar una carne roja, cruda, libre de patógenos. (Rojas, G. 2014).

### **3.6.1. *Escherichia Coli spp***

*E. coli* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* y al género *Escherichia*. Muchas de las cepas de *E. coli* no producen enfermedad, y se consideran comensales aprófitos. Sin embargo, se han determinado varios tipos de *E. coli* enteropatógenas, basándose en diferentes factores de virulencia: *E. coli* enterohemorrágica (ECEH), *E. coli* enterotoxígena (ECET), *E. coli* enteropatógena (ECEP), *E. coli* enteroinvasiva (ECEI), *E. coli* enteroagregativa (ECEA) y *E. coli* de adherencia difusa (ECAD). Existe una mayor información de los primeros cuatro tipos mencionados, pero se conocen peor la patogenicidad y la prevalencia de cepas de ECEA y ECAD. (Almenar, L. 2014).

*E. coli* es un huésped universal del intestino del hombre y de los animales de sangre caliente. Dado que está presente de forma habitual en las heces, su fácil cultivabilidad, su carácter patogénico y su supervivencia en agua, se ha adoptado como indicador de contaminación fecal y de la posible presencia de patógenos entéricos en el agua. Puesto que *E. coli* es un huésped del tracto intestinal, fuera de éste va a vivir durante muy poco tiempo. Es una bacteria Gram-negativa, de forma bacilar corta, catalasa positiva, oxidasa negativa y anaerobia facultativa. *E. coli* crece en unos límites de temperatura amplios, entre 15 y 45 °C. En cambio, hay algunas cepas que crecen a temperaturas tan bajas como son 4 °C. Normalmente su temperatura óptima va a ser 44 °C. El calor los destruye a 60 °C en 15 minutos y a 55 °C en una hora, es decir, se elimina a temperatura de pasteurización y también

cuando se almacena el producto en frío, sobre todo a temperatura de congelación. (Almenar, L. 2014).

### **3.6.2. *Listeria spp***

En la última década, la listeriosis ha sido una de las principales enfermedades de origen alimentario. *Listeria monocytogenes*, por su gran interés para la salud pública y su impacto económico, es uno de los microorganismos más importantes en las últimas décadas. El género *Listeria* engloba seis especies: *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri* y *L. grayi*. Sólo *L. monocytogenes* y *L. ivanovii* son patógenas. La primera es un patógeno humano; en cambio, la segunda es un patógeno animal.

En cuanto a temperaturas de crecimiento, tiene un límite muy amplio, comprendido entre 1 - 45 °C, con una óptima de 30 – 37 °C. Es una bacteria psicotrófica. Para que se destruya se necesita alcanzar una temperatura de 70 °C alrededor de 2-3 minutos, Además, la congelación no va a reducir el tamaño de la población bacteriana respecto al pH, es capaz de desarrollarse entre 5,1 y 9,6. Su pH óptimo es 7,5. (Almenar, L. 2014).

### **3.6.3. *Salmonella spp***

*Salmonella* fue observado por primera vez por los bacteriólogos alemanes Eberth y Koch en 1880 y, posteriormente fue cultivado por Gaffky, Salmon y Smith en 1885 aislaron *Bacillus cholerae-suis* en cerdos con peste porcina, enfermedad cuya etiología vírica se desconocía y asimismo fueron aisladas bacterias tanto en casos de infección transmitida por alimentos como en casos de enfermedad animal. El género *Salmonella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Son bacilos pequeños, gram-negativos, no esporulados, habitualmente móviles mediante flagelos peritricos aunque hay algunas especies que son inmóviles. El tamaño oscila de 0,3µm x 1,0-1,6 µm. Son aero-anaerobios facultativos, quimiorganótrofos y poseen un metabolismo oxidativo y fermentativo, produciendo ácido y, a menudo, gas.

Salmonella es capaz de crecer a temperaturas por debajo de 5 °C incluso hasta una temperatura de 47 °C, con un crecimiento óptimo de 37 °C. También se ha demostrado su crecimiento en almacenados entre 2 y 4 °C. A una temperatura de 60°C o superior se destruyen entre los 5-15 minutos, ya que son sensibles al calor. La pasteurización a 72 °C durante 15 segundos va a asegurar la destrucción de la bacteria en la leche. En cuanto al pH, puede crecer en valores entre 4,5 y 9,5, con un pH óptimo de 6,5-7,5. Puede llegar a crecer a un pH de 4,05. (Almenar, L. 2014).

#### **3.6.4. Crecimiento Bacteriano**

La microbiología comprende el estudio de una amplia variedad de sistemas vivientes inferiores que incluyen virus, bacterias, algas, hongos simples como las levaduras y mohos; su crecimiento se puede considerar como el aumento ordenado de todos los constituyentes químicos de un organismo, lo cual para organismos unicelulares conduce a un aumento en el número de individuos en la población. (Rojas, A. 2014).

La curva de crecimiento de un cultivo microbiano puede ser subdividida en cuatro partes distintas denominadas fase de latencia, fase exponencial, fase estacionaria y fase de muerte.

**La fase de latencia**, es el período de ajuste, las células experimentan al ser transferidas de un medio al otro antes de iniciar su crecimiento. La fase exponencial o logarítmica es aquella durante la cual los microorganismos crecen y se dividen hasta el nivel máximo posible, en función de su potencial genético, tipo de medio y las condiciones en que crece. En este periodo hay una relación lineal entre el logaritmo de número de células (o cualquier otra propiedad medible de la población) y el tiempo. Los microorganismos se dividen y duplican en número en intervalos regulares. Como cada célula se divide en un momento ligeramente diferente del resto, la curva de crecimiento aumenta suavemente, en lugar de realizar discretos saltos.

**La fase estacionaria**, es resultado del agotamiento de los nutrientes disponibles o del efecto de acumulación de productos tóxicos de metabolismo que tiene como consecuencia la disminución de la velocidad de crecimiento. La transición entre la fase exponencial y la fase estacionaria se caracteriza por un crecimiento desequilibrado, durante el cual los diversos componentes celulares son sintetizados a diferentes velocidades.

**La fase de muerte**, es consecuencia de diferentes factores: uno importante es el agotamiento de las reservas celulares de energía. Al igual que el crecimiento, la muerte también asume una función exponencial que puede ser representada por una disminución lineal del número de las células viables a lo largo del tiempo. (Dos Santos, E. 2007).

## CAPÍTULO IV

### 4. Marco Metodológico

#### 4.1. Ubicación del Experimento

El presente trabajo de investigación se desarrolló en los laboratorios de microbiología y suelos de la Universidad Estatal del Bolívar, Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Ingeniería Agroindustrial.

**Tabla 3: Localización del experimento**

Provincia	Bolívar
Cantón	Guaranda
Parroquia	Ángel Polivio Chávez
Sector	Laguacoto II
Dirección	Vía Guaranda – San Simón Km 1 ½

**Tabla 4: Situación Geográfica y Climática**

PARAMETRO	VALOR
Altitud	2800 msnm
Latitud	01°34'15" sur
Longitud	79°0'02" oeste
Temperatura Media Anual	13°C
Temperatura mínima	8°C
Temperatura máxima	18°C
Humedad	75%

**Fuente:** (Estación Meteorológica de la Universidad Estatal de Bolívar. Laguacoto II, 2017)

## **4.2. Zona de Vida**

De acuerdo con la clasificación de las zonas de vida de Leslie Holdrìdge. El lugar de la investigación corresponde a la formación de Montano Bajo. (MB) con una altitud de 2800 msnm, con temperaturas de 18 °C a 8 °C.

## **4.3. Material Experimental**

- Frutos de uvilla (semi-maduros y maduros).
- 10 Cepas de bacterias aisladas de carne de res (10 de cada una; *E. coli spp.*, *Salmonella spp.*, *Listeria spp.*).
- 10 Cepas de bacterias aisladas de carne de cerdo (10 de cada una; *E. coli spp.*, *Salmonella spp.*, *Listeria spp.*).
- 10 Cepas de bacterias aisladas de carne de pollo (10 de cada una; *E. coli spp.*, *Salmonella spp.*, *Listeria spp.*).

### **4.3.1. Materiales de Oficina**

- Computadora
- USB
- Impresora
- Papel bond
- Esferográficos
- Libreta de apuntes
- Cámara fotográfica

### **4.3.2. Materiales de Campo**

- Licuadora
- Balanza analítica

#### 4.3.3. Materiales de Laboratorio

- Probeta
- Bisturí
- Cajas Petri
- Termómetro
- Bandejas de plástico / metálicas
- Papel aluminio
- Picetas
- Tijeras
- Frascos ámbar
- Varilla de agitación
- Espátulas
- Papel filtro
- Papel toalla
- Cinta adhesiva
- Tubos Durham
- Pera de succión
- Pipetas
- Puntas desechables
- Incubadora
- Escala Macfarlad
- Congelador
- Liofilizador
- Espectrofotómetro
- Vaso de precipitación
- Eppendorf
- Escala mefarland parámetro de turbidez 0.5

#### 4.3.4. Reactivos

- Agua destilada
- Agua potable
- Alcohol antiséptico
- Etanol 95 %
- Medios de cultivo
- Verde brillante
- XLD
- Agar nutriente
- Mueller Hilton agar
- Palcam agar base
- Bacto agar

#### 4.4. Métodos

##### 4.4.1. Diseño Experimental

Del tema de investigación planteado se obtuvo los siguientes factores de estudio, los mismos que se presentan en el siguiente cuadro:

**Tabla 5: Factores de Estudio**

<b>Factores</b>	<b>Código</b>	<b>Niveles</b>
Métodos	A	a <sub>1</sub> = Estado fresco a <sub>2</sub> = Liofilizado
Grado de Madurez	B	b <sub>1</sub> = Frutos semi-maduros (escala 3) b <sub>2</sub> = Frutos maduros (escala 5)
Tipos de Solventes	C	c <sub>1</sub> = Etanol 95% c <sub>2</sub> = Agua destilada

##### 4.4.2. Esquema del Experimento

A continuación, se describe la combinación de factores A x B x C

**Tabla 6: Descripción de los Factores de Estudio**

N° Tratamiento	Código	Descripción factorial
1	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	Estado fresco + 15gr de Frutos semi-maduros (escala 3) + 100 ml de Etanol al 95 %.
2	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	Estado fresco + 15gr de Frutos semi-maduros (escala 3) + 100 ml de agua destilada.
3	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> c <sub>1</sub>	Estado fresco + 15gr de frutos maduros (escala 5) + 100 ml de Etanol al 95 %.
4	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> c <sub>2</sub>	Estado fresco + 15gr de frutos maduros (escala 5) + 100 ml de agua destilada.
5	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	Liofilizado + 5gr de Frutos semi-maduros (escala 3) + 100 ml de Etanol al 95 %.
6	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	Liofilizado + 5gr de Frutos semi-maduros (escala 3) + 100ml de agua destilada.
7	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> c <sub>1</sub>	Liofilizado + 5gr de frutos maduros (escala5) + 100 ml de Etanol al 95 %.
8	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> c <sub>2</sub>	Liofilizado + 5gr de frutos maduros (escala5) + 100 ml de agua destilada.

Fuente: M López, A Yanchaliquin 2017

#### 4.4.3. Características del Experimento

Unidad experimental =	100 ml
Factores en estudio =	3
Tratamientos =	8
Repeticiones =	3
Unidades experimentales =	24

#### 4.4.4. Tipo de Diseño Experimental

En esta investigación se consideró la importancia de evaluar el efecto combinado o de interacción de tres factores: factor A: métodos (fresco y liofilizado), factor B: grado de madurez (frutos semi-maduros y maduros de uvilla), factor C: tipos de solventes (etanol al 95% y agua destilada) puede causar un efecto distinto sobre la variable respuesta por eso se ejecutó un Diseño de Bloques Completamente al Azar

(DBCA) en arreglo factorial A x B x C con 3 repeticiones. Cada respuesta experimental se expresó por el modelo matemático siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + C_k + (AB)_{ij} + R_k + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

$\mu$  = Efecto global

$A_i$  = efecto del i-ésimo nivel del factor A;  $i = 1, \dots, a$

$B_j$  = efecto del j-ésimo nivel del factor B;  $j = 1, \dots, b$

$(AB)_{ij}$  = efecto de la interacción entre los factores A, B, C.

$R_k$  = efecto de las repeticiones,  $k = 1, \dots, r$

$\varepsilon_{ijk}$  = Residuo o error experimental

#### 4.4.5. Análisis Estadístico

Las características con las que actuó el diseño experimental en base al modelo matemático propuesto fueron las siguientes:

**Tabla 7: Grados de libertad del diseño experimental**

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	23
Bloques/Repeticiones	2
Tratamientos	8
Error	13

#### 4.4.6. Análisis Estadístico funcional

- Se realizó la tabla de análisis de varianza ADEVA.
- Prueba de Tukey al 5 % para comparar promedios de los tratamientos y los factores en estudio.
- Comprobar la cinética de crecimiento bacteriano.

## **4.5. Mediciones Experimentales**

### **4.5.1. En la Materia Prima**

#### **4.5.1.1. Potencial Hidrogeno**

Se determinó el potencial hidrógeno (pH) según la NTE INEN 2 485, el mismo que ayudó a determinar el nivel de acidez o alcalinidad que tuvieron la muestra previa a la obtención de extractos.

#### **4.5.1.2. Acidez Titulable**

Lo realizamos la medición por el método de titulación con hidróxido de sodio 0,1 N, según la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 381.

#### **4.5.1.3. Grados Brix**

La medición se realizó mediante la utilización de un Brixómetro de escala 0 a 32, y se procedió a realizar una observación visual directa de una muestra de 1 ml aproximadamente, según la norma NTE INEN 380.

### **4.5.2. En los extractos**

#### **4.5.2.1. Potencial hidrógeno**

La determinación del potencial hidrógeno (pH) en los extractos acuosos y etanólicos de uvilla semi-madura y madura, según la NTE INEN 2 485.

#### **4.5.2.2. Volumen**

Se lo realizó mediante la utilización de una probeta graduada y/o vaso de precipitación, el mismo que indicó el volumen final del extracto obtenido.

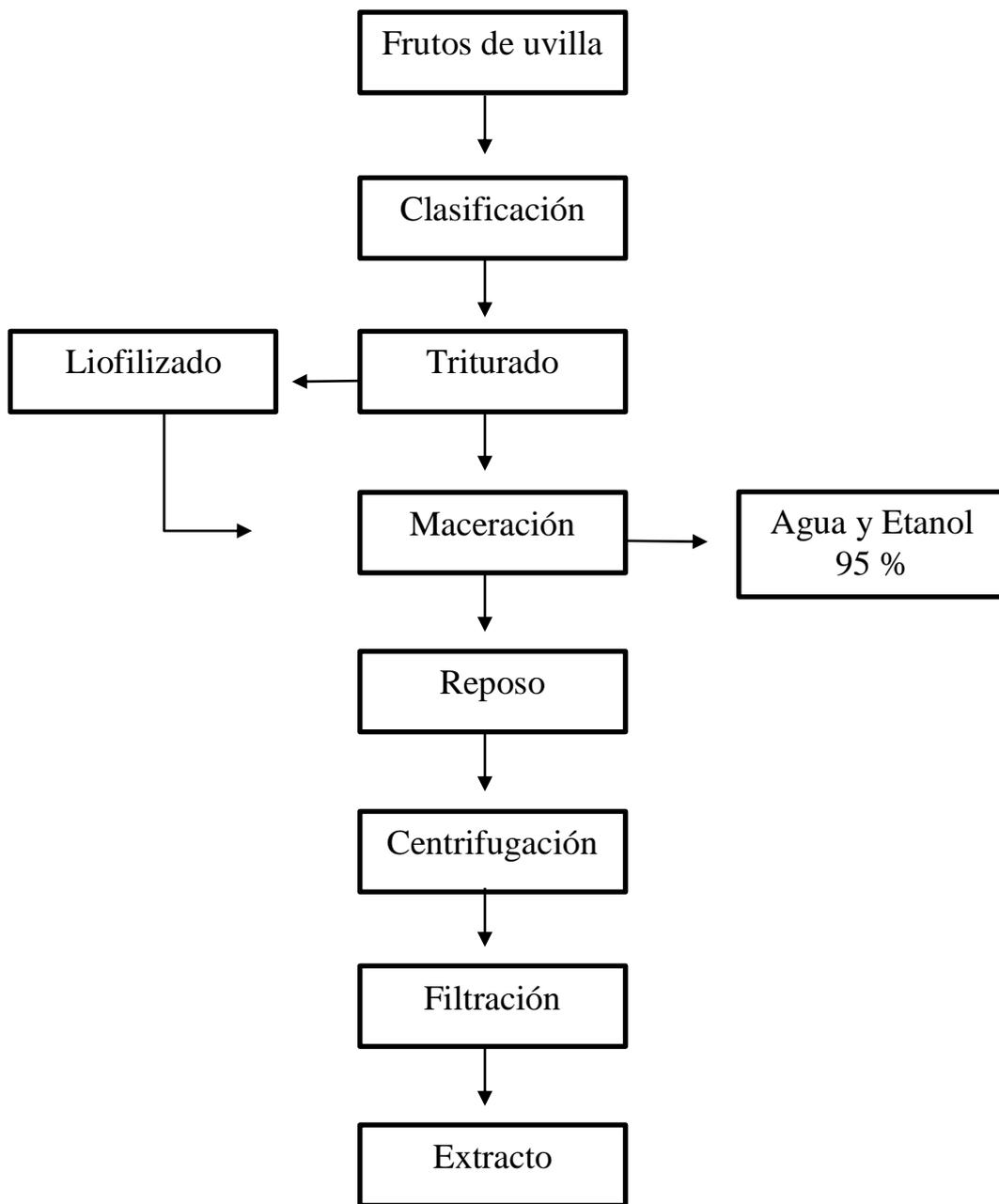
#### **4.5.2.3. Actividad Antimicrobiana**

Utilizando la técnica de antibiograma de discos-placa, la misma que consistió en la utilización de discos de 5mm de diámetro y la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos, el método fue de acuerdo a lo estudiado por (Kirby-Bauer en el año 1984).

#### **4.5.2.4. Cinética de Crecimiento**

Se determinó la cinética de crecimiento mediante el método de dilución, utilizando bacterias aisladas de carne en placas.

## DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA OBTENCIÓN DE EXTRACTO DE UVILLA



Fuente: M López, A Yanchaliquin 2017.

#### 4.5.3. Descripción del Proceso

- **Frutos de uvilla (semi-maduros y maduros)**

Se realizó en la parroquia La Magdalena cantón San José de Chimbo provincia Bolívar-Ecuador, la recolección de los frutos semi-maduros y maduros de uvilla, se llevó al laboratorio y se procedió a la clasificación según el grado de madurez.

- **Clasificación**

Una vez recolectada los frutos de uvilla se trasladó a los laboratorios de Investigación de la Universidad Estatal de Bolívar y se procedió a retirar objetos extraños y el capuchón de los frutos de uvilla se los clasifica según el grado de madurez (3 y 5) y se realizó los análisis físico-químicos.

- **Triturado**

El triturado se lo realizó en triturador de cocina, en donde se trituraron frutos semi-maduros y maduros de uvilla; una vez triturado las muestras una parte se mandó a liofilizar (INIAP Santa Catalina Quito).

- **Maceración**

En un envase de vidrio de color ámbar se colocó 100 ml de solvente (etanol al 95 % y agua destilada), se pesó 15 g y de muestra (frutos semi-maduros y maduros) de la uvilla fresca y se pesó 5 g (frutos semi-maduros y maduros) de uvilla liofilizada y se los introdujo en el frasco, agua destilada o alcohol + uvilla semi-madura o madura + uvilla fresca o liofilizada.

- **Reposo**

Una vez preparado los extractos se le dejó en reposo tanto el acuoso como el etílico por un lapso de 6 a 14 días en un lugar oscuro y fresco para conservar las propiedades bioactivos de las muestras.

- **Centrifugado de los extractos**

Una vez cumplido el tiempo de maceración se procedió a centrifugar los extractos a una velocidad de 9000 rpm por un tiempo de 15 minutos a una temperatura de 25 °C para el etanólico y de 9000 rpm por un tiempo de 14 minutos a una temperatura de 40 °C para el acuoso. Con el objetivo de separar las partículas sólidas del líquido de diferente densidad por medio de la fuerza giratoria.

- **Filtración**

La filtración se la realizó manualmente utilizando embudos y filtros estériles de una porosidad de 125 mm para separar partículas sólidas que pudieron quedar luego de la centrifugación.

- **Extracto**

Se obtuvieron los extractos (acuosos y etanólicos) los mismos que se los envasó en un frasco de color ámbar para evitar la pérdida de las propiedades bioactivos y se los almacenó en refrigeración.

- **Aplicación de los extractos**

Una vez obtenidos los extractos concentrados (acuosos y etanólicos) de frutos semi-maduros y maduros de uvilla, se procedió a aplicar la técnica de discos-placa (kirby-bauer año1984), utilizando discos de 5 mm de diámetro.

- **Preparación del nutriente agar**

En un Erlenmeyer de 1000 ml, se preparó un caldo nutritivo (28 gr en 1000 ml de agua destilada). Posteriormente se autoclavó a 121 °C por 15 minutos, se vertió en cajas Petri y se dejó enfriar y se almacenó, quedando listo para su posterior uso.

- **Humedecer los discos en blanco con los extractos acuosos y etílicos**

Utilizando cada uno de los tratamientos, (extractos) en un eppendorf se sumergió de 10 a 15 discos en blanco de 5mm de diámetro, con una pipeta estéril, se añadió de 2 a 3 ml de extracto según cubra a los discos, se agitó en el bortex y se dejó en reposo durante 10 minutos.

- **Preparación de las muestras**

En un tubo de ensayo que contiene una solución salina (1/100), con un aza estéril se tomó de 3 a 4 colonias de bacterias y se hizo la suspensión en la solución salina hasta alcanzar una concentración de células equivalente a 0,5 de la escala McFarland en el calibrador de inóculos del sistema (Opción McFarland). Culminado este proceso se realizó unas diluciones de  $10^2$ ,  $10^3$ , quedando un patrón y dos diluciones.

- **Inoculación de las cajas Petri**

Se humedece un hisopo estéril en la suspensión a la  $10^3$ , que contienen bacterias, posteriormente se realizó la siembra de las mismas por agotamiento y estrías en las cajas Petri que contiene agar nutritivo y se dejó en reposo de 5 a 10 minutos, culminado este proceso se codificó las muestras y con una pinza estéril se los colocó los discos patrón de AM GN y los discos que anteriormente se humedecieron con los extractos de los diferentes tratamientos en los cultivos de bacterias (*Listeria spp*, *E. coli spp*, *Salmonella spp*). Se dejó secar los cultivos

de bacterias y se colocó en sentido contrario en la estufa a una temperatura de 37 °C durante 24 horas, transcurrido este período de tiempo se procedió a verificar los resultados y con una regla se midió los halos de inhibición tanto de los discos patrón como de los discos con cada uno de los extractos. Por lo tanto, se probó la eficiencia de los extractos frente a bacterias patógenas aisladas de carne de cerdo, res, pollo como *Salmonella spp.*, *E. coli*, *Listeria spp.*

- **Cinética de crecimiento**

Preparación del inóculo. Para la preparación del inóculo, se tomó de tres a cuatro colonias de un cultivo fresco (18 a 24 h) de (*Escherichia coli spp.*, *salmonella, spp.*, *listeria spp.*) y se inoculó en un tubo de ensayo con 4.5 ml de medio de cultivo estéril (Caldo Müller-Hilton) hasta alcanzar una concentración de células equivalente a 0,5 de la escala McFarland en el calibrador de inóculos del sistema (Opción McFarland). Método usado según (Riverón, E. *et al* 2012).

- **Preparación de las muestras microbiológicas**

A partir de la concentración de células equivalente a 0,5 McFarland, se tomó 1 ml de la muestra correctamente homogenizada y se inoculó en 9 ml de medio estéril (Caldo Müller-Hilton), luego con una pipeta semiautomática se le añadió 2 ml de extracto de uvilla (acuoso y etanólico) y se agitó en el vortex, luego se colocó en la incubadora a 37 °C y se midió la absorbancia cada 2 horas. Para este proceso de dilución se seleccionaron 9 cepas de bacterias al azar más los debidos controles para cada una de las bacterias aisladas de carne y además se seleccionó el extracto que dio mejores resultados en la prueba de antibiograma (T7).

## CAPÍTULO V

### 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados que se reportan a continuación corresponden a los valores promedio obtenido utilizando tres repeticiones por tratamiento.

#### 5.1. Análisis Realizados a la Materia Prima

Se realizaron los análisis de: pH, acidez titulable y °Brix los mismos que se muestra en la tabla a continuación.

**Tabla 8. Resultados de parámetros físico-químicos de la uvilla.**

Uvilla	pH	Brix %	Acidez titulable %
Semi-maduro	3.43	11	2.15
Maduro	3.83	17	2.55

**Fuente.** Departamento de Investigación Laboratorio de Bromatología – UEB, 2017.

Los datos de las propiedades físico-químicas de la uvilla se detallan en la tabla 8 como se puede observar el pH es ligeramente más bajo en relación a la uvilla madura, debido a la concentración de elementos ácidos propios del estado de madurez, la norma INEN 2485 (2009) menciona un pH de 3.39 en fruto maduro de uvilla; Marín, Z. *et al.*, (2010), reportaron valores que oscilan entre 3.49 - 3.62, valores similares se obtuvieron en este trabajo.

La concentración de azúcares solubles (°Brix), obviamente son más altos en los frutos maduros. La norma INEN 380 (2009) menciona 11 % °Brix fruta de exportación y menciona que varía de acuerdo al grado de madurez.

Los ácidos solubles presentes en los frutos de uvilla varían de acuerdo al estado de madurez de las mismas. La norma INEN 381 (2009), menciona un 2.5 % de acidez titulable para fruta de exportación. Marín, Z. *et al.*, (2010), reportó valores de 2.7 para fruta madura, valores similares se encontraron en la presente investigación. Estos datos varían de acuerdo a grado de madurez de la fruta.

## 5.2. Análisis de los Extractos

### 5.2.1. Determinación de pH

Los análisis físico-químicos efectuados a los extractos acuosos y etanólicos de uvilla de frutos semi-maduro y maduros fueron realizados en el laboratorio de investigación de la Universidad Estatal de Bolívar.

La medición experimental del pH realizada a los extractos de uvilla, determinó el nivel de potencial de hidrógeno o alcalinidad, se evaluó mediante la utilización de un potenciómetro y establece la concentración de los iones hidrógeno que se encuentran presentes en el producto, de ahí que dependiendo de sus valores podemos establecer que el producto tiene una alta o baja acidez. Los valores obtenidos de las mediciones experimentales se presentan en la tabla a continuación:

**Tabla 9: Respuesta experimental de los pH, realizados a los tratamientos (extractos)**

Tratamientos	Código	Replica 1	Replica 2	Replica 3	Promedio
1	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	4,92	4,70	4,8	4,81
2	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	3,75	3,74	3,75	3,75
3	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> c <sub>1</sub>	3,27	5,05	4,50	4,27
4	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> c <sub>2</sub>	3,77	3,62	3,70	3,70
5	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	4,84	3,50	4,30	4,21
6	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	3,77	3,70	3,68	3,72
7	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> c <sub>1</sub>	2,93	3,06	3,01	3,00
8	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> c <sub>2</sub>	3,84	3,82	3,81	3,82

Fuente: M López, A Yanchaliquin 2017

Para el análisis de los resultados del pH se procedió a realizar la tabla de análisis de varianza (ADEVA) mediante la utilización del programa estadístico Statgraphics como se detalla a continuación:

**Tabla 10: Análisis de varianza para la respuesta experimental pH. de los extractos**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Factor A	1,17484	1	1,17484	7,18	0,0165*
Factor B	1,07104	1	1,07104	6,54	0,0211*
Factor C	0,64353	1	0,64353	3,93	0,0649 NS
AB	0,10270	1	0,10270	0,63	0,4399 NS
AC	1,44550	1	1,44550	8,83	0,0090**
BC	1,21950	1	1,21950	7,45	0,0149*
ABC	0,26250	1	0,26250	1,60	0,2235NS
RESIDUOS	2,61947	16	0,16371		
TOTAL	8,53910	23			

**Fuente:** M López, A Yanchaliquin 2017

\* Diferencia estadística significativa

\*\* Diferencia estadística altamente significativa

NS= Diferencia no significativa

Los valores obtenidos en la tabla ADEVA, muestran la variabilidad que tiene el pH debido a los factores y niveles de estudio. Los valores P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 3 valores P son menores que 0,05, los mismos que son la interacción de factor A, que son los métodos que tienen una diferencia significativa con relación al factor B (grado de madurez), que tiene una diferencia significativa con relación al factor C (tipos de solventes) y además la interacción BC que es grado de madurez y tipos de solventes y tiene una diferencia significativa con relación a la interacción ABC y un valor menor que 0,01; que es la interacción AC que es métodos y tipos de solventes que tiene una diferencia altamente significativa ( $p > 0,05$ ) en el contenido de potencial de hidrógeno.

El valor P del factor A (métodos) con un valor de 0,0165 es menor que 0,05 por lo tanto este factor tiene una diferencia estadística significativa sobre el pH del extracto de uvilla obtenido en la investigación. Para determinar cuáles medias son

significativamente diferentes de otras se procede a elaborar la tabla de Tukey al 5 % como se detalla a continuación:

**Tabla 11: Prueba de Tukey al 5 % para el pH debida al factor A.**

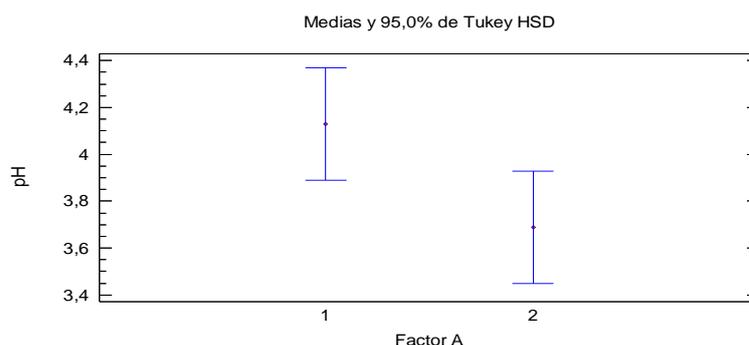
<i>Factor A</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
2	3,68833	0,161518	X
1	4,13083	0,161518	X

**Fuente:** M López, A Yanchaliquin 2017

En la Tabla 11 se aplica un procedimiento de comparación de medios para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. Existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los 2 niveles (estado fresco y Liofilizado) del factor A (métodos), con un nivel del 95,0 % de confianza. Se ha identificado dos grupos homogéneos según la alineación de las X's, por ende, existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que no comparten una misma columna.

El gráfico que muestra lo mencionado anteriormente se detalla a continuación:

**Gráfico 1: Comportamiento del factor A en relación al pH**



**Fuente:** M López, A Yanchaliquin 2017

El valor P del factor B (grado de madurez) con un valor de 0,0211 es menor que 0,05 por lo tanto este factor tiene una diferencia estadística significativa sobre el pH del extracto de uvilla obtenido en la investigación. Para determinar cuáles

medias son significativamente diferentes se elaboró la tabla de Tukey al 5 % como se detalla a continuación:

**Tabla 12: Prueba de Tukey al 5 % para el pH debida al factor B.**

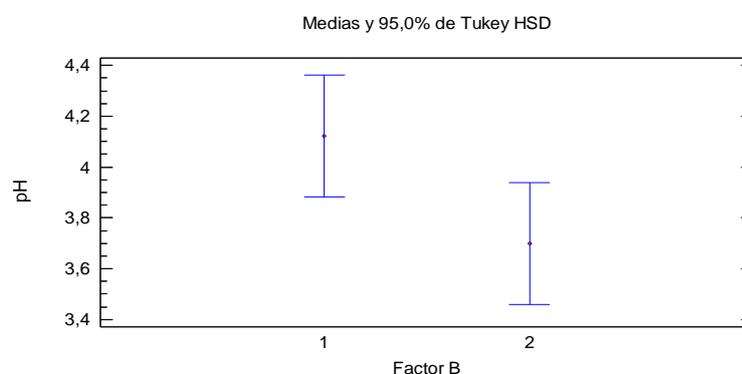
<i>Factor B</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
2	3,69833	0,161518	X
1	4,12083	0,161518	X

Fuente: M López, A Yanchaliquin 2017

En la tabla anterior se aplicó un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. Existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los 2 niveles (frutos semi-maduros “grado 3” y frutos maduros “grado 5”) con un nivel del 95,0 % de confianza.

Se ha identificado dos grupos homogéneos, según la alineación de las X's, por ende, existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que no comparten una misma columna. En este caso el nivel 1 “frutos semi-maduros “grado 3” tiene un efecto sobre el pH, obviamente las concentraciones de ácidos cambian según el grado de madurez del fruto, lo manifestado anteriormente se muestra en el gráfico que se presenta a continuación:

**Gráfico 2: Comportamiento del factor B en relación al pH.**



Fuente: M López, A Yanchaliquin 2017

El valor P del factor C (tipos de disolventes) con un valor de 0,0649 es mayor que 0,05 por lo tanto este factor no tiene diferencia estadística significativa sobre el pH del extracto de uvilla obtenido en la investigación. Para comprobar lo manifestado se elaboró la prueba de Tukey al 5 % como se detalla a continuación:

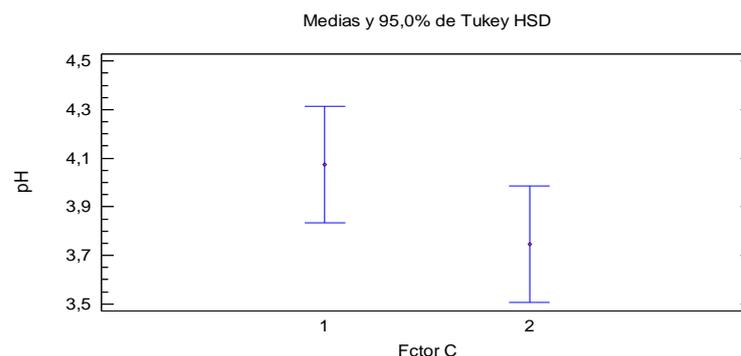
**Tabla 13: Prueba de Tukey al 5 % para el pH debida al factor C.**

<i>Factor C</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
2	3,74583	0,161518	X
1	4,07333	0,161518	X

**Fuente:** M López, A Yanchaliquin 2017

En la tabla anterior se aplicó un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. No hay diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los 2 niveles (etanol 95 % y agua destilada) del factor C, con un nivel del 95,0 % de confianza. Se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's, por ende, no existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que comparten la misma columna. En este caso el nivel 1 “etanol” tiene un efecto sobre el pH.

**Gráfico 3: Comportamiento del factor C en relación al pH.**



**Fuente:** M López, A Yanchaliquin 2017

El valor P de la interacción AB (métodos y grado de madurez) con un valor de 0,4399 es mayor que 0,05 por lo tanto esta interacción no tiene diferencia estadística

significativa sobre el pH del extracto de uvilla obtenido. Para comprobar lo manifestado se elaboró la prueba de Tukey al 5 % como se detalla a continuación:

**Tabla 14: Prueba de Tukey al 5% para el pH debida a la interacción AB.**

<i>Interacción AB</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1-1	4,276	0,161518	X
1-2	3,985	0,161518	X
2-1	3,965	0,161518	X
2-2	3,411	0,161518	X

Fuente: M López, A Yanchaliquin 2017

En la tabla anterior se aplicó un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. Existen diferencias estadísticamente significativas de la interacción de los 2 factores (métodos y grado de madurez), con un nivel del 95,0 % de confianza. Se ha identificado tres grupos homogéneos, según la alineación de las X's, por lo tanto, existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que no comparten la misma columna.

El valor P de la interacción AC (métodos y solventes) con un valor de 0,0090 es menor que 0,05 y menor que 0,01 por lo tanto esta interacción tiene diferencia estadística altamente significativa sobre el pH. Para comprobar lo manifestado se elaboró la tabla de Tukey al 5 % como se detalla a continuación:

**Tabla 15: Prueba de Tukey al 5 % para el pH debida a la interacción AC.**

<i>Interacción AC</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1-1	4,540	0,161518	X
1-2	3,721	0,161518	X
2-1	3,606	0,161518	X
2-2	3,770	0,161518	X

Fuente: M López, A Yanchaliquin 2017

En la tabla anterior se aplicó un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. Existen diferencias estadísticamente significativas de la interacción de los 2 factores (métodos y solventes), con un nivel del 95,0 % de confianza. Se ha identificado dos grupos homogéneos según la alineación de las X's, por lo tanto, existen diferencias estadísticas altamente significativas entre aquellos niveles que no comparten la misma columna.

El valor P de la interacción BC (grado de madurez y solventes) con un valor de 0,0149 es menor que 0,05 por lo tanto esta interacción tiene diferencia estadística significativa sobre el pH. Para comprobar lo manifestado se elaboró la tabla de Tukey al 5 % como se detalla a continuación:

**Tabla 16: Prueba de Tukey al 5 % para el pH debida a la interacción BC.**

<i>Interacción BC</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1-1	4,510	0,161518	X
1-2	3,731	0,161518	X
2-1	3,636	0,161518	X
2-2	3,760	0,161518	X

**Fuente:** M López, A Yanchaliquin 2017

En la tabla anterior se aplicó un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. Existen diferencias estadísticamente significativas de la interacción de los 2 factores (grado de madurez y solventes), con un nivel del 95,0 % de confianza. Se ha identificado dos grupos homogéneos según la alineación de las X's, por lo tanto, existen diferencias estadísticas altamente significativas entre aquellos niveles que no comparten la misma columna.

Por otra parte, el valor P de la interacción ABC (métodos, grado de madurez y solventes) con un resultado de 0.0235 es menor que 0,05 por lo tanto esta interacción tiene diferencia estadística sobre el pH de extracto obtenido. Para comprobar lo manifestado se elaboró la tabla de Tukey al 5 % como se detalla a continuación:

**Tabla 17: Prueba de Tukey al 5 % para el pH de extracto obtenido a la interacción ABC.**

<i>Interacción ABC</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
1-1-1	4, 2231	0,161518	X
1-1-2	4, 3333	0,161518	X
1-2-1	4, 5017	0,161518	X
1-2-2	3, 1676	0,161518	X
2-1-1	3, 0451	0,161518	X
2-1-2	4, 8313	0,161518	X
2-2-1	4, 1310	0,161518	X
2-2-2	4, 8333	0,161518	X

**Fuente:** M López, A Yanchaliquin 2017

En la tabla anterior se aplicó un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. Existen diferencias estadísticas en la interacción de los 3 factores de estudio (métodos, grado de madurez y solventes), con un nivel del 95,0 % de confianza. Se ha identificado dos grupos homogéneos según la alineación de las X's, de este modo las interacciones influyen en el pH final del extracto.

## **5.2. Determinación del volumen final del extracto (ml)**

Es importante determinar el volumen de extracto que se pueda obtener el rendimiento del extracto. Los valores obtenidos de las mediciones experimentales realizadas a la uvilla para la obtención del volumen de extracto se presentan en la tabla a continuación:

**Tabla 18: Volumen (ml) de extracto obtenido en los diferentes tratamientos.**

N° Tratamientos	Código	Replica 1	Replica 2	Replica 3	Promedios
1	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	77	83	86	82,00
2	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	78	79	87	81,33
3	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> c <sub>1</sub>	77	80	85	80,67
4	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> c <sub>2</sub>	78	82	86	82,00
5	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	79	81	83	81,00
6	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	78	80	79	79,00
7	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> c <sub>1</sub>	76	79	81	78,67
8	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> c <sub>2</sub>	80	78	78	78,67

Fuente: M López, A Yanchaliquin 2017

Para el análisis de la variable volumen del extracto obtenido de las uvillas se procedió a realizar la tabla de análisis de varianza (ADEVA) mediante la utilización del programa estadístico Statgraphics como se detalla a continuación:

**Tabla 19: Análisis de varianza para el volumen (ml) del extracto obtenido.**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Factor A	28,1667	1	28,1667	2,49	0,0133 *
Factor B	4,1666	1	4,1666	0,37	0,5521 NS
Factor C	0,6666	1	0,6666	0,06	0,8111 NS
AB	1,5000	1	1,5000	0,13	0,7203 NS
AC	2,6666	1	2,6666	0,24	0,04766 *
BC	6,0000	1	6,0000	0,53	0,6336 NS
ABC	0,0000	1	0,0000	0,00	0,03456 *
RESIDUOS	180,667	16	11,2917		
TOTAL	223,833	23			

Fuente: M López, A Yanchaliquin 2017

Los valores obtenidos en la tabla ADEVA muestran la variabilidad o no del volumen de los extractos obtenidos en contribuciones debidas a los factores y niveles de estudio planteados en la investigación. Los valores P obtenidos en esta tabla prueban la significancia estadística de cada uno de los factores.

El valor P del factor A (métodos) con un resultado de 0,0133 es mayor que 0,05; por lo tanto, este factor no tiene diferencia estadística significativa sobre el volumen

de extracto obtenido con un 95 % de nivel de confianza. Para comprobar lo manifestado se elaboró la tabla de Tukey al 5 % como se detalla a continuación:

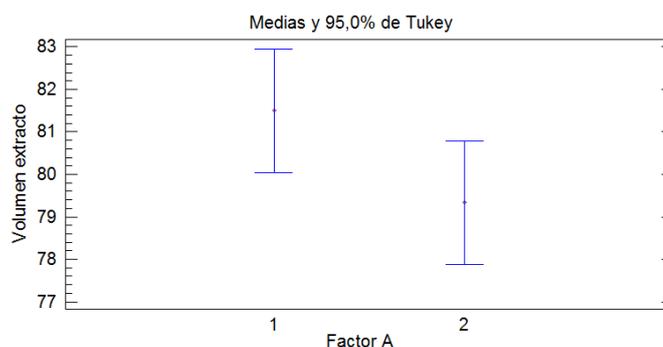
**Tabla 20: Prueba de Tukey al 5 % para volumen de extracto debido al factor A.**

<i>Factor A</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	79,3333	0,970037	X
2	81,5	0,970037	X

**Fuente:** M López, A Yanchaliquin 2017

En la tabla 20 se aplicó un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. Existe diferencias estadísticas entre las medias de los 2 niveles (estado fresco y Liofilizado) del factor A (métodos), con un nivel del 95,0 % de confianza pues se ha identificado 1 grupo homogéneo según la alineación de las X's. El gráfico a continuación muestra lo mencionado anteriormente.

**Gráfico 4: Comportamiento del factor A en relación al volumen de extracto obtenido**



**Fuente:** M López, A Yanchaliquin 2017

El valor P del factor B con un resultado de 0,5521 es mayor que 0,05, por lo tanto, este factor no tiene diferencia estadística sobre el volumen de extracto obtenido con un 95% de nivel de confianza. Para comprobar lo manifestado se elaboró la tabla de Tukey al 5 % como se detalla a continuación:

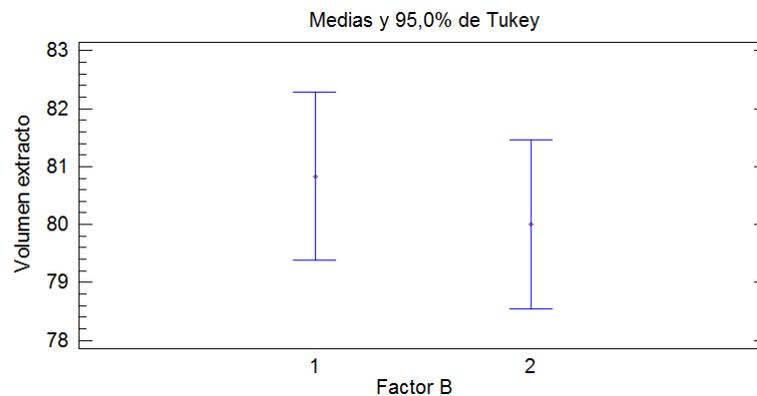
**Tabla 21: Prueba de Tukey al 5 % para el volumen de extracto debido al factor B.**

<i>Factor B</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	80,83	0,970037	X
2	80,00	0,970037	X

Fuente: M López, A Yanchaliquin 2017

En la tabla 21 se aplicó un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. No existe diferencias estadísticas entre las medias de los 2 niveles (frutos semi maduros escala “3” y frutos maduros escala “5”) del factor B (estado de madurez), con un nivel del 95,0 % de confianza pues no se han identificado grupos homogéneos según la alineación de las X's, En la misma se determina que el nivel B no influye en el volumen final del extracto. El gráfico a continuación muestra lo mencionado anteriormente.

**Gráfico 5: Comportamiento del factor B en relación al volumen de extracto.**



Fuente: M López, A Yanchaliquin 2017

El valor P del factor C con un resultado de 0,8111 es mayor que 0,05 por lo tanto este factor no tiene una diferencia estadística sobre el volumen de extracto obtenido con un 95 % de nivel de confianza. Para comprobar lo manifestado se elaboró la tabla de Tukey al 5 % como se detalla a continuación:

**Tabla 22: Prueba de Tukey al 5 % para el volumen de extracto debido al factor C.**

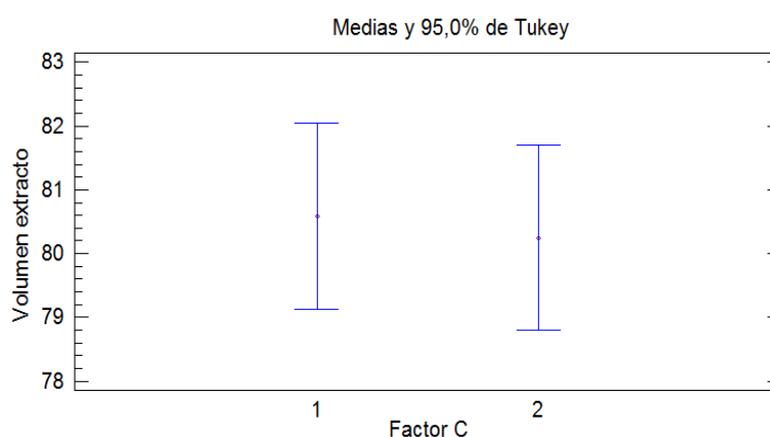
<i>Factor C</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	80,58	0,970037	X
2	80,25	0,970037	X

Fuente: M López, A Yanchaliquin 2017

En la Tabla 22 se aplicó un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. Existe diferencias estadísticas entre las medias de los 2 niveles (etanol 95 % y agua destilada) del factor C (tipo de solventes), con un nivel del 95,0 % de confianza, no se ha identificado 1 grupo homogéneo según la alineación de las X's,

De este modo se tiene que el nivel C1 permite extraer mayor volumen de extracto. El gráfico que muestra lo mencionado anteriormente se presenta a continuación:

**Gráfico 6: Comportamiento del factor C en relación al volumen de extracto obtenido**



Fuente: M López, A Yanchaliquin 2017

El valor P de la interacción AB (métodos y estados de madurez) con un resultado de 0,7203 es mayor que 0,05 por lo tanto, esta interacción no tiene diferencia estadística sobre el volumen del extracto de uvilla obtenido. Para comprobar lo manifestado se elaboró la tabla de Tukey al 5 % como se presenta a continuación:

**Tabla 23: Prueba de Tukey al 5 % para el volumen de extracto debido a la interacción AB.**

<i>Interacción AB</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1-1	81,66	1,37184	X
1-2	81,33	1,37184	X
2-1	80,00	1,37184	X
2-2	78,66	1,37184	X

Fuente: M López, A Yanchaliquin 2017

En la tabla anterior se aplicó un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. No existen diferencias estadísticas en la interacción de los 2 factores de estudio (métodos y estado de madurez), con un nivel del 95 % de confianza. Se ha identificado 2 grupos homogéneos, según la alineación de las X's, A1B1, A1B2 son los que no permite obtener mayor volumen del extracto.

Por otra parte, el valor P de la interacción AC (métodos y solventes) con un resultado de 0,0476es mayor que 0,05; por lo tanto, esta interacción tiene diferencia estadística significativa sobre el volumen de extracto obtenido. Para comprobar lo manifestado se elaboró la tabla de Tukey al 5 % como se detalla a continuación:

**Tabla 24: Prueba de Tukey al 5 % para el volumen de extracto obtenido debido a la interacción AC.**

<i>Interacción AC</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1-1	81,3333	1,37184	X
2-1	81,6667	1,37184	X
2-2	79,8333	1,37184	X
1-2	78,8333	1,37184	X

Fuente: M López, A Yanchaliquin 2017

En la tabla anterior se aplicó un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. No existen diferencias estadísticas en la interacción de los 2 factores (métodos y solventes), con un nivel del 95,0 % de confianza. Se ha identificado 2 grupos homogéneos

según la alineación de las X's, la interacción A2C1, A1C2 influye en el volumen final del extracto.

Por otra parte, el valor P de la interacción BC (estados de madurez y solventes) con un resultado de 0,6336 es mayor que 0,05 por lo tanto esta interacción no tiene diferencia estadística sobre el volumen de extracto obtenido. Para comprobar lo manifestado se elaboró la tabla de Tukey al 5 % como se detalla a continuación:

**Tabla 25: Prueba de Tukey al 5 % para el volumen de extracto obtenido a la interacción BC.**

<i>Interacción BC</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1-1	81,50	1,37184	X
2-1	80,16	1,37184	X
2-2	80,33	1,37184	X
1-2	79,66	1,37184	X

**Fuente:** M López, A Yanchaliquin 2017

En la tabla anterior se aplicó un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. No existen diferencias estadísticas en la interacción de los 2 factores de estudio (grado de madurez y solventes), con un nivel del 95,0 % de confianza. Se ha identificado dos grupos homogéneos según la alineación de las X's, de este modo las dos interacciones no influyen en el volumen final del extracto.

Por otra parte, el valor P de la interacción ABC (métodos, grado de madurez y solventes) con un resultado de 0.03456 es menor que 0,05 por lo tanto esta interacción tiene diferencia estadística sobre el volumen de extracto obtenido. Para comprobar lo manifestado se elaboró la tabla de Tukey al 5 % como se detalla a continuación:

**Tabla 26: Prueba de Tukey al 5 % para el volumen de extracto obtenido a la interacción ABC.**

<i>Interacción ABC</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
1-1-1	81,2231	1,37184	X
1-1-2	81,3333	1,37184	X
1-2-1	80,5017	1,37184	X
1-2-2	81,1676	1,37184	X
2-1-1	79,0451	1,37184	X
2-1-2	79,8313	1,37184	X
2-2-1	80,1310	1,37184	X
2-2-2	78,8333	1,37184	X

Fuente: M López, A Yanchaliquin 2017

En la tabla anterior se aplicó un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. No existen diferencias estadísticas en la interacción de los 3 factores de estudio (métodos, grado de madurez y solventes), con un nivel del 95,0 % de confianza. Se ha identificado cuatro grupos homogéneos según la alineación de las X's, de este modo las cuatro interacciones influyen en el volumen final del extracto.

### **5.3. Actividad Antimicrobiana de extractos de uvilla.**

Se realizó mediante la técnica antibiograma de discos-placa utilizando discos de 5mm de diámetro, consistió en la determinación de la sensibilidad bacteriana frente a los antimicrobianos, los extractos y antimicrobianos patrones.

**Tabla 27: Resultados de antibiograma de discos – placa, realizados a los tres tipos de bacterias aisladas de carne expresados en mm.**

Cepas	T1 (FS mE)	T2 (FSm A)	T3 (FM E)	T4 (FM A)	T5 (LFS mE)	T6 (LFS mA)	T7 (LF ME )	T8 (LF MA )	SE
	2	0	0	0	1	0	3	0	

<i>Salmonella spp.</i>	1	0	0	0	0,5	0	2	0		Pollo
	3	0	0	0	1,5	0	4	0		
Promedio	2	0	0	0	1	0	3	0	*	
<i>E. coli spp.</i>	1	0	1	0	1	0	1	0		
	0,5	0	0,5	0	0,5	0	1	0		
	1,5	0	1,5	0	1,5	0	1,5	0		
Promedio	1	0	1	0	1	0	1,2	0	NS	
<i>Listeria spp.</i>	2	0	1	0	1	0	2	0		
	1,5	0	0,5	0	0,5	0	3	0		
	1	0	1,5	0	1,5	0	1	0		
Promedio	1,5	0	1	0	1	0	2	0	NS	
<i>Salmonella spp.</i>	2	0,05	0,5	0	2	0	4	0		Cerdo
	1,5	0	0,9	0	1	0	2,5	0		
	0,8	0	2	0	1	0	2	0		
Promedio	1,5	0,02	3,4	0	1,3	0	3	0	*	
<i>E. coli spp.</i>	1,2	0	1	0	1	0	3	0		
	1	0	1,2	0	1	0	2	0		
	1	0	1,4	0	2	0	2,5	0		
Promedio	1,1	0	1,2	0	1,3	0	2,5	0	NS	
<i>Listeria spp.</i>	0,5	0	1	0	1	0	2	0		
	1	0	2	0	0	0	3	0		
	2	0	1	0	2	0	2	0		
Promedio	1,1	0	1,3	0	1	0	2,3	0	NS	
<i>Listeria spp.</i>	0,8	0	0,4	0	0,9	0	3	0		Res
	1,1	0	0,3	0	0,7	0	2,8	0		
	0,8	0	0,6	0	1	0	3,3	0		
Promedio	0,9	0	0,4	0	0,9	0	3	0	*	
<i>E. coli spp.</i>	0,6	0	0,5	0	1,1	0	1,9	0		
	0,8	0	0,8	0	0,9	0	2,3	0		
	0,6	0,1	0,1	0	1,3	0	1,6	0		
Promedio	0,7	0,03	0,5	0	1,1	0	2,03	0	NS	

<i>Salmonella</i> <i>spp.</i>	1.5	0	0.6	0.05	1.2	0	3	0	
	1.9	0.5	2.3	1.2	1.7	0	3	0	
	1.5	0.4	1.5	0	2	0	3.1	0	
Promedio	1.6	0.3	1.5	0.4	1.6	0	3	0	*

Fuente: M López, A Yanchaliquin 2017

La Tabla N° 27, muestra los resultados obtenidos en la prueba de antibiograma, los mismos que establecen que el tratamiento T7 correspondiente al extracto etanólico con fruto maduro (escala 5) por el método de liofilización, tiene los mejores efectos como inhibidor de la actividad microbiana, donde se observan los halos de inhibición (CMI) de 3mm de la bacteria aislada (*salmonella* spp. *E. coli* spp. *Listeria* spp.) en carne de pollo, cerdo, res. También se puede mencionar que los extractos etanólicos tiene una diferencia significativa ya que se puede observar la capacidad antimicrobiana de la uvilla. Estos valores, que es considerado como un punto de referencia que justifica continuar el estudio a fin de aislar, purificar y determinar la estructura química de los compuestos responsables del efecto antibacteriano. El hallazgo de nuevos agentes antibióticos, sean de fuentes naturales o sintéticas se ha convertido en una necesidad apremiante para la comunidad médica y científica en general.

#### 5.4. Curva de Crecimiento.

A partir de los datos obtenidos del crecimiento de microorganismos en relación al tiempo y que fueron evaluados mediante espectrometría con valores de absorbancia; se procedió a realizar las curvas de cinética de crecimiento de bacterias aisladas de carne de res, cerdo y pollo en placas, de las cuales se obtuvo los siguientes resultados:

**Tabla 28: Valores de absorbancia obtenidos de pruebas cromatografías en relación al tiempo.**

M/O	tiempo /horas	Código	0	2	4	6	8	10	12	UFC de partida
	Res	Lspp24	0,007	0,0245	0,329	0,348	0,332	0,119	0,101	100
<i>Listeria spp.</i>	Cerdo	Lspp19	0,002	0,0022	0,004	0,005	0,005	0,005	0,0035	89
	Pollo	Lspp3	0,003	0,0033	0,005	0,005	0,005	0,003	0,0031	105
	Res	E. coli 22	0,0025	0,0026	0,045	0,0045	0,0043	0,003	0,029	102
<i>E. Coli spp.</i>	Cerdo	E. Coli 3	0,0011	0,0012	0,0028	0,0026	0,0026	0,003	0,0015	100
	Pollo	E. Coli 15	0,002	0,0031	0,0054	0,0055	0,004	0,0019	0,0035	110
	Res	Salm 28	0,006	0,0145	0,029	0,0028	0,022	0,0039	0,01	109
<i>Salmonela spp.</i>	Cerdo	Salm 5	0,006	0,0145	0,02	0,248	0,242	0,019	0,009	105
	Pollo	Salm 18	0,002	0,003	0,003	0,003	0,004	0,019	0,002	105
Control <i>Listeria spp.</i>		Spp	0,008	0,009	0,03	0,24	0,3	0,003	0,6	105
Control <i>E. Coli spp.</i>		Spp	0,005	0,01	0,009	0,32	0,32	0,33	0,58	108
Control <i>Salmonela spp.</i>		Spp	0,006	0,01	0,09	0,27	0,32	0,35	0,58	110

**Fuente:** M López, A Yanchaliquin 2017

Tras el análisis de la Tabla 28 se considera que los valores mayores de absorbancia representan mejor presencia de microorganismos (mayor número de colonias), en la escala Mcfarlad según Medina, D. (2007) nos dice que la absorbancia de cepas de control es 108 UFC para *E. coli spp.*, 105 UFC para *Listeria spp.* y de 110 UFC para *Salmonella spp.* esto es por cada ml de muestra según el método de Goizper. Es importante considerar que en la investigación realizada tenemos; *listeria spp.* es de 0.348 UFC una vez que se ha transcurrido 6 horas; y para *E. coli ssp.* es de 0.048 UFC transcurrido 4 horas y para la *listeria spp.* es de 0.248 UFC una vez transcurrido

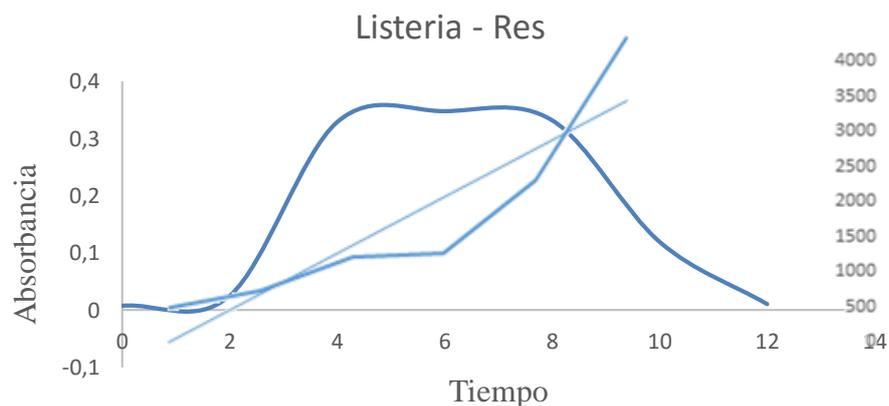
6 horas, según el método de Goizper tenemos una constante 0,693 UFC a las 0 horas y a una concentración de 0,5 Mcfarlad.

**Tabla 29: Cinética de crecimiento bacteriano.**

m/o	Código		2	4	6	8	10	12	UFC de partida
Listeria spp.	Res	Lspp24	199,94	397,89	796	852,67	1704,88	3407,07	100
	Cerdo	Lspp19	177,61	355,06	709,9268	1419,45	3717,66	7433,3	89
	Pollo	Lspp3	209,941	419,7694	839,31	1678,1634	3355,412	2688845,53	105
E. coli spp.	Res	e. Coli 22	202,726	405,339	810,457	1620,497	3042,3154	6082,97251	102
	Cerdo	e. Coli 3	199,94	397,89	795,5635	852,67	1704, 88	3407,07	100
	Pollo	e. coli 15	219,9422	439,7629	879,2866	1758,093	3515,2146	7028,5194	110
Salmonella spp.	Res	Salm 28	217,5292	439,9382	869,6397	168448,85	336806,029	673428,84	109
	Cerdo	Salm 3	209,941	419,7694	839,31	1678,1634	3355,412	2688845,53	105
	Pollo	Salm 8	209,941	419,7694	839,31	1678,1634	3355,412	2688845,53	105
Control Listeria spp.	SPP		209,941	419,7694	839,31	1678,1634	3355,412	2688845,53	105
Control E. Coli spp.	SPP		215,5337	430,848	861,6625	1722,9864	3445,0355	6886,7101	108
Control Salmonella spp.	SPP		219,9422	439,7629	879,2866	1758,093	3515,2146	7028,5194	110

**Fuente:** M López, A Yanchaliquin 2017

**Gráfico 7: Curva de crecimiento de *Listeria spp.* aislada en carne de res vs tiempo**

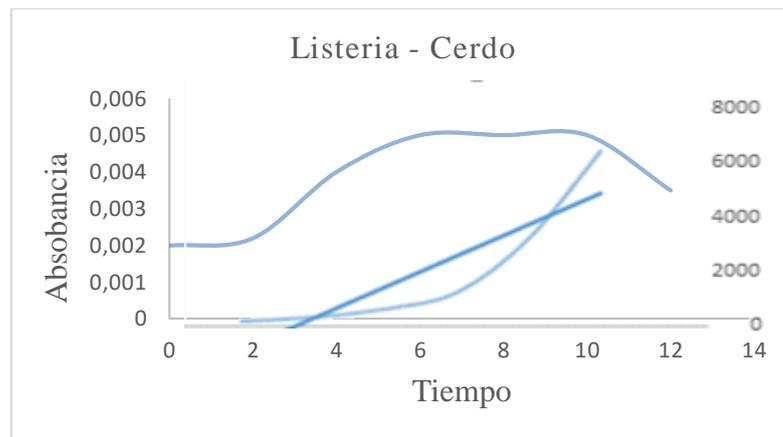


**Fuente:** M López, A Yanchaliquin 2017

En el gráfico presentado se observa que, de 0 a 2 horas no existe crecimiento y de 2 a 4 horas se apreció un crecimiento logarítmico de los microorganismos, de 4 a 7.5 empezó la fase estacionaria y de 8 a 12 horas tenemos la muerte de las bacterias,

según lo que se puede manifestar se cumple la cinética de crecimiento bacteriano. Por acción del extracto de uvilla se produce una muerte más severa de los microorganismos, cuando matemáticamente debería seguir su crecimiento hasta las 21 horas según Larcher, L. *et al.*, (2009).

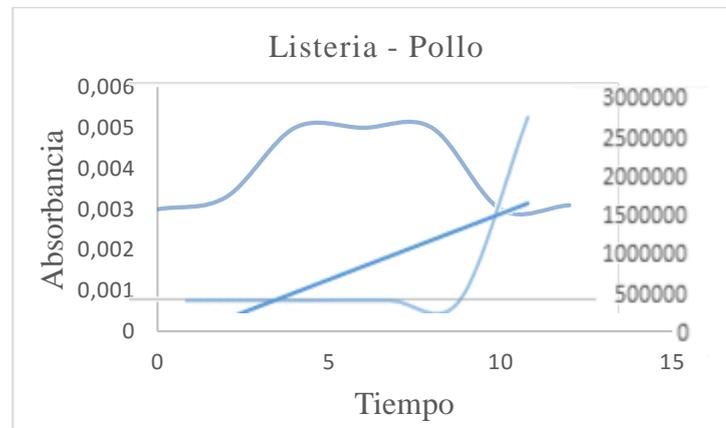
**Gráfico 8: Curva de crecimiento de *Listeria spp.* aislada en carne de cerdo vs tiempo**



Fuente: M López, A Yanchaliquin 2017

De igual manera como en el gráfico anterior se observa que, de 0 a 2 horas no existe crecimiento y de 2 a 6 horas se apreció un crecimiento logarítmico de los microorganismos, de 6 a 9 empezó la fase estacionaria de las bacterias y de 9 a 12 horas tenemos la muerte de las bacterias, según lo que se puede manifestar se cumple la cinética de crecimiento bacteriano, por acción del extracto de uvilla se produce una muerte más severa de los microorganismos, cuando matemáticamente debería seguir su crecimiento hasta las 21 horas según Larcher, L. *et al.*, (2009).

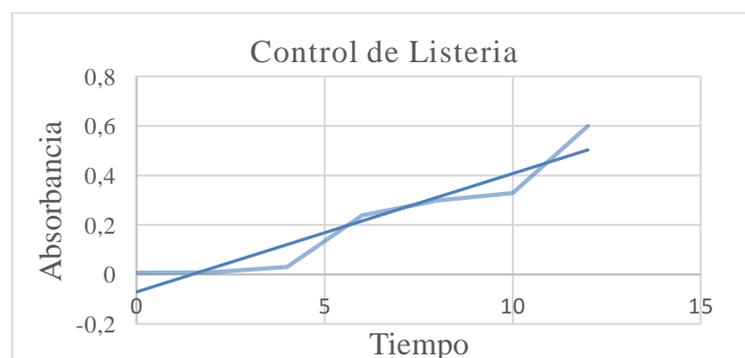
**Gráfico 9: Curva de crecimiento de *Listeria spp.* aislada en carne de pollo vs tiempo**



**Fuente:** M López, A Yanchaliquin 2017

En el gráfico previamente se observa que, de 0 a 2 horas no existe crecimiento y de 2 a 4 horas se apreció un crecimiento logarítmico de los microorganismos, de 4 a 9 empezó la fase estacionaria de las bacterias y de 9 a 12 horas tenemos la muerte, según lo que se puede manifestar se cumple la cinética de crecimiento bacteriano, por acción del extracto de uvilla se produce una muerte más severa de los microorganismos, cuando matemáticamente debería seguir su crecimiento hasta las 21 horas según Larcher, L. *et al.*, (2009).

**Gráfico 10: Control de *listeria spp.***



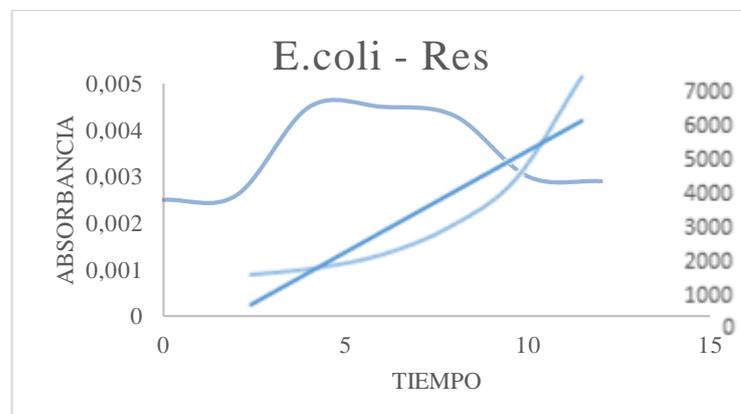
**Fuente:** M López, A Yanchaliquin 2017

De acuerdo a los datos obtenidos anteriormente, podemos manifestar la eficiencia del extracto de uvilla evaluado en los 3 tipos de carne con relación a la bacteria *Listeria spp.*, en la misma se puede evidenciar que se cumplen las fases de

crecimiento desde su estado de latencia hasta la muerte del microorganismo en función del tiempo; el extracto obtenido manifiesta mejor eficiencia en pollo pues aproximadamente a partir de las 7.5 horas empieza a darse la fase de muerte del microorganismo; cuando matemáticamente debería seguir en crecimiento hasta las 21 horas según Larcher, L. *et al.*, (2009).

Del mismo modo, con valores de absorbancia obtenidos para la bacteria *E coli spp.* se procedió a elaborar las curvas de crecimiento que se presentan a continuación:

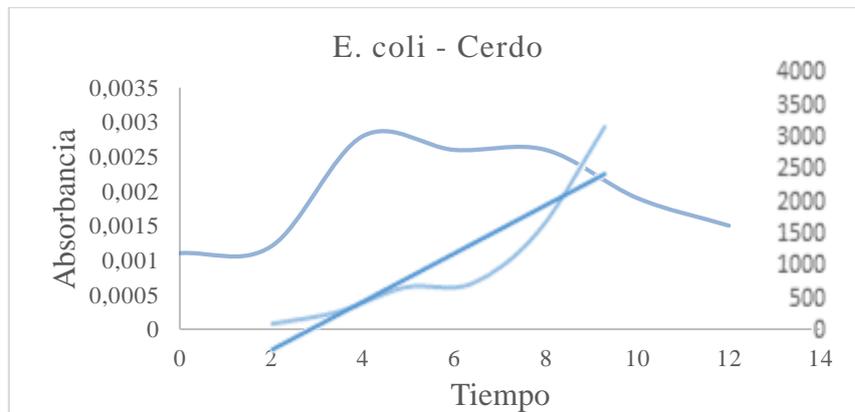
**Gráfico 11: Curva de crecimiento de *E coli spp.* aislada en carne de res vs tiempo**



**Fuente:** M López, A Yanchaliquin 2017

En el gráfico 11 previamente se observa que, de 0 a 3 horas no existe crecimiento y de 3 a 5 horas se apreció un crecimiento logarítmico de los microorganismos, de 5 a 7 empezó la fase estacionaria de las bacterias y de 7 a 12 horas tenemos la muerte, según lo que se puede manifestar se cumple la cinética de crecimiento bacteriano, esto se debe a la acción del extracto de uvilla y produce una muerte más severa de los microorganismos, cuando matemáticamente debería seguir su crecimiento hasta las 21 horas según Larcher, L. *et al.*, (2009).

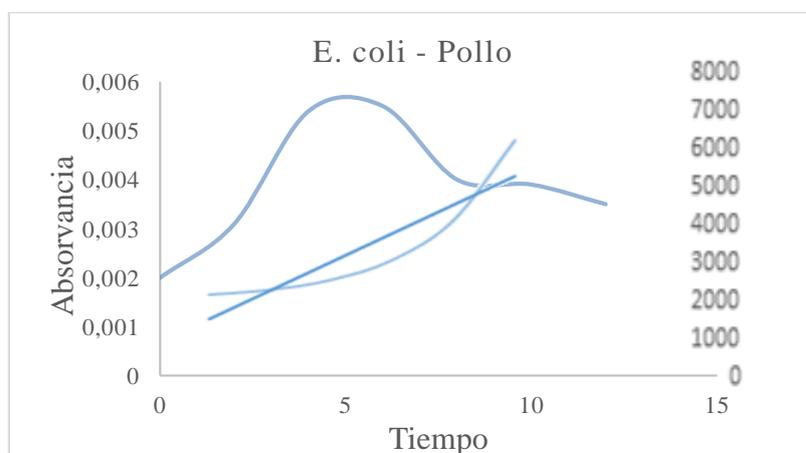
**Gráfico 12: Curva de crecimiento de *E. coli* spp. aislada en carne de cerdo vs tiempo.**



**Fuente:** M López, A Yanchaliquin 2017

En el gráfico se observa que, de 0 a 2 horas no existe crecimiento y de 2 a 4 horas se apreció un crecimiento logarítmico de los microorganismos, de 4 a 5 empezó la fase estacionaria de las bacterias y también se puede manifestar una muerte leve me microorganismos y de 9 a 12 horas tenemos la muerte de las bacterias, según lo que se puedo manifestar se cumple la cinética de crecimiento bacteriano. Por acción del extracto de uvilla se produce una muerte más severa de los microorganismos, cuando matemáticamente debería seguir su crecimiento hasta las 21 horas según Larcher, L. *et al.*, (2009).

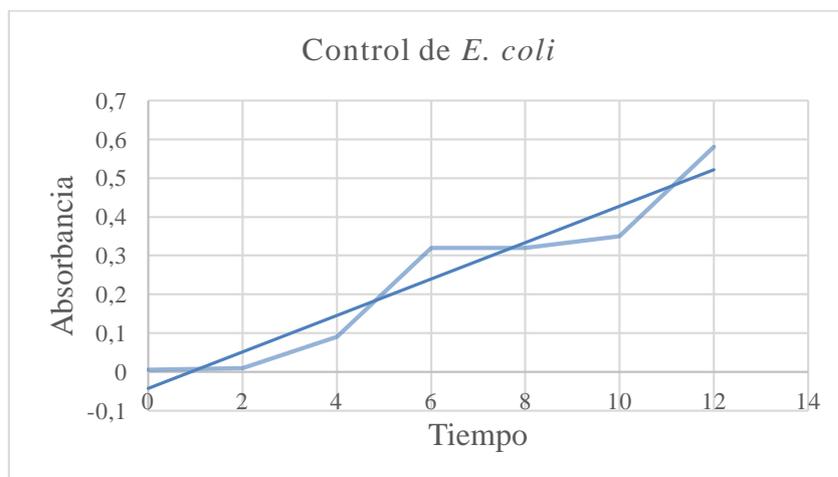
**Gráfico 13: Curva de crecimiento de *E. coli* spp. aislada en carne de pollo vs tiempo.**



**Fuente:** M López, A Yanchaliquin 2017

En el gráfico se observa que, de 0 a 4 horas se apreció un crecimiento logarítmico de los microorganismos, de 4 a 6 empezó la fase estacionaria de las bacterias y de 6 a 12 horas tenemos la muerte de las bacterias, se puede manifestar se cumple la cinética de crecimiento bacteriano. Por acción del extracto de uvilla se produce una muerte más severa de los microorganismos, cuando matemáticamente debería seguir su crecimiento hasta las 21 horas según Larcher, L. *et al.*, (2009).

**Gráfico 14: Control de *E. coli* spp.**

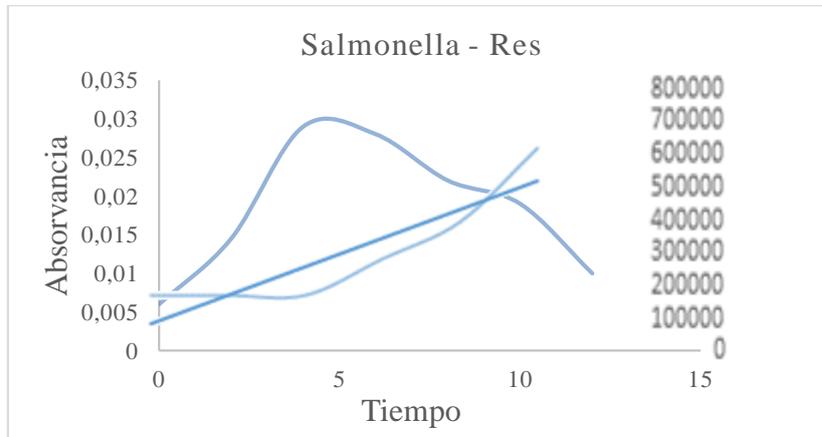


**Fuente:** M López, A Yanchaliquin 2017

De acuerdo a lo representado en los gráficos anteriores (11,12,13) se establece la eficiencia del extracto de uvilla evaluado en los 3 tipos de carne con relación a la bacteria *E coli* spp. en la misma se puede evidenciar que se cumplen las fases de crecimiento desde su estado de latencia hasta la muerte del microorganismo en función del tiempo; el extracto de uvilla tuvo mejor eficiencia en carne de pollo, aproximadamente a partir de las 6 horas empieza a darse la fase de muerte del microorganismo; cuando matemáticamente debería seguir el crecimiento bacteriano hasta las 21 horas según Larcher, L. *et al.*, (2009).

Según los valores de absorbancia obtenidos para la bacteria *Salmonella* se procedió a elaborar las curvas de crecimiento que se presentan a continuación:

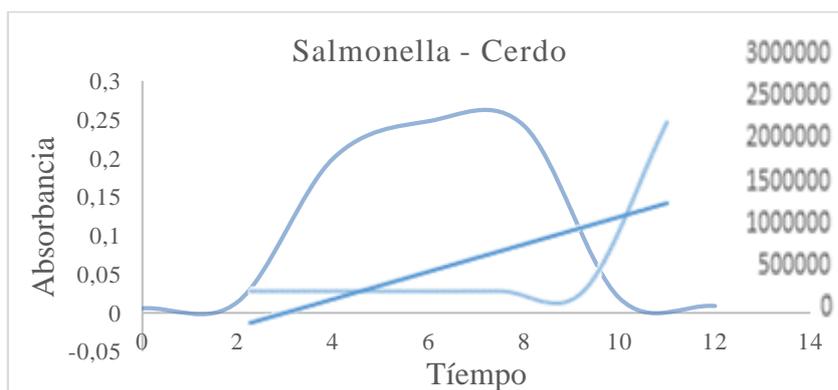
**Gráfico 15: Curva de crecimiento de *Salmonella spp.* aislada en carne de pollo vs tiempo.**



**Fuente:** M López, A Yanchaliquin 2017

En el gráfico se observa que, de 0 a 5 se apreció un crecimiento logarítmico de los microorganismos, a las 5 horas se ve una mínima fase estacionaria de las bacterias ya que a esa misma hora tenemos la muerte de las bacterias, se puede manifestar se cumple la cinética de crecimiento bacteriano. Por acción del extracto de uvilla se produce una muerte más rígida de los microorganismos, cuando matemáticamente debería seguir su crecimiento hasta las 21 horas según Larcher, L. *et al.*, (2009).

**Gráfico 16: Curva de crecimiento de *Salmonella spp.* aislada en carne de cerdo vs tiempo**

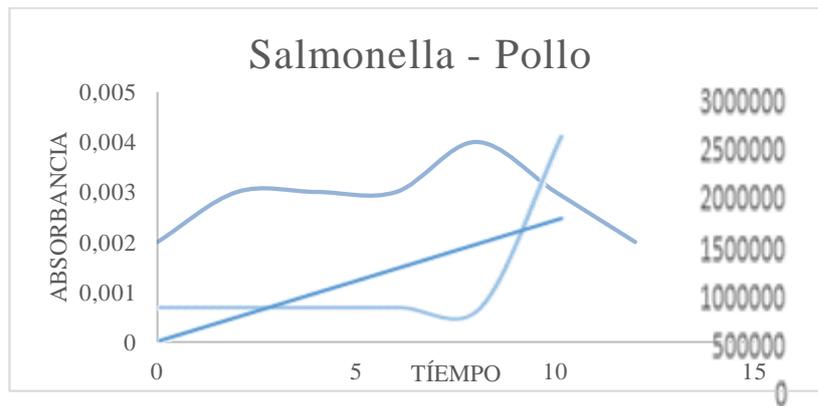


**Fuente:** M López, A Yanchaliquin 2017

En el gráfico se observa que, de 0 a 2 horas no existe crecimiento y de 2 a 5 horas se apreció un crecimiento logarítmico de los microorganismos, de 5 a 7 empezó la fase estacionaria de las bacterias y de 7 a 12 horas tenemos la muerte de las

bacterias, se puede manifestar se cumple la cinética de crecimiento bacteriano, por acción del extracto de uvilla se produce una muerte más severa de los microorganismos, cuando matemáticamente debería seguir su crecimiento hasta las 21 horas según Larcher, L. *et al.*, (2009).

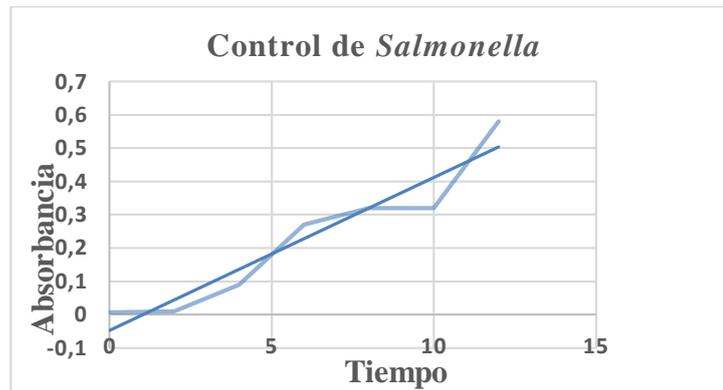
**Gráfico: 17 Curva de crecimiento de *Salmonella spp.* aislada en carne de pollo vs tiempo**



**Fuente:** M López, A Yanchaliquin 2017

En el gráfico se observa que, de 0 a 2 horas se apreció un crecimiento logarítmico de los microorganismos, de 2 a 7 horas empezó la fase estacionaria de las bacterias y de 7 a 8 horas aquí se produce un nuevo crecimiento bacteriano, de 8 a 12 tenemos la muerte de las bacterias, según lo que se puede manifestar que se cumple la cinética de crecimiento bacteriano. Por acción del extracto de uvilla se produce una muerte más severa de los microorganismos, además en la gráfica se observa que tiene dos etapas de crecimiento de las bacterias, esto se debe a la eficiencia del extracto, cuando matemáticamente debería seguir su crecimiento hasta las 21 horas según Larcher, L. *et al.*, (2009).

**Gráfico 18: Control de *salmonella* spp.**



**Fuente:** M López, A Yanchaliquin 2017

Los gráficos presentados anteriormente (15,16,17) establecen la eficiencia del extracto de uvilla evaluado en los 3 tipos de carne con relación a la bacteria *Salmonella*, en la misma se evidencia el cumplimiento de las fases de crecimiento desde su estado de latencia hasta la muerte del microorganismo en función del tiempo; el extracto de uvilla presentó una eficiencia en carne de cerdo aproximadamente a partir de las 6 horas empieza a darse la fase de muerte del microorganismo; sin embargo matemáticamente debe seguir con el crecimiento hasta las 21 horas según Larcher, L. *et al.*, (2009).

En la evaluación realizada a los tres tipos de carne y tres microorganismos se puede evidenciar el cumplimiento de las 4 fases de la curva de crecimiento microbiano desde la fase de latencia, crecimiento exponencial, estacionaria y de muerte, pudiendo deberse en sí a las características y estructura de la carne pero que se da de forma más rápida la fase de latencia y estacionaria llegando a la muerte del microorganismo a partir de las 6 horas.

Con estos datos se puede comprobar que la utilización de extractos etanólicos de uvilla tiene un efecto directo en la actividad antimicrobiana de las bacterias patógenas aisladas de tres tipos de carne.

## CAPÍTULO VI

### 6. COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS

Para el desarrollo del trabajo de investigación se propusieron las siguientes hipótesis:

#### 6.1 Hipótesis Nula $H_0$

Los extractos etanólicos y acuosos obtenidos a partir de la *Physalis peruviana L* en los diversos tratamientos no inhiben el crecimiento de las bacterias en estudio.

$$H_0 = T_1 = T_2 = T_3 \dots = T_n$$

#### 6.2. Hipótesis Alternativa $H_1$

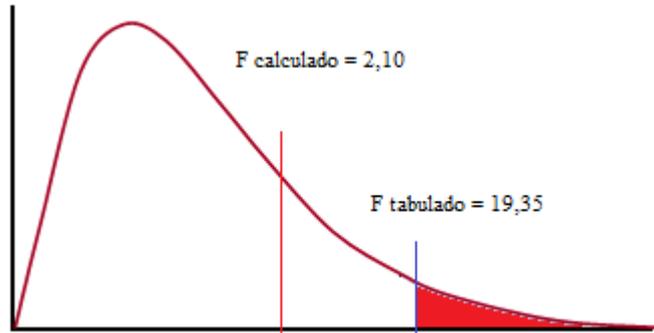
Los extractos etanólicos y acuosos obtenidos a partir de la *Physalis peruviana L* en los diversos tratamientos inhiben el crecimiento de las bacterias en estudio.

$$T_1 \neq T_2 \neq T_3 \dots \neq T_n$$

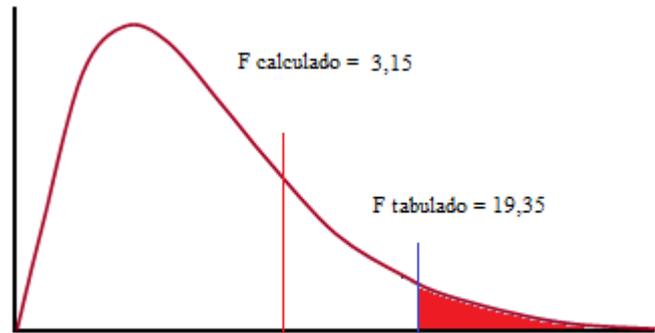
#### 6.3. Análisis de Comprobación de la Hipótesis

Para verificar la hipótesis planteada se procedió a realizar la Distribución F de Fisher, la misma que se desarrolló para las bacterias *Listeria spp.*, *E coli spp.* y *Salmonella spp.* que dieron los mejores resultados en cuanto a la inactivación de microorganismos en el extracto utilizado; las distribuciones mencionadas se presentan a continuación:

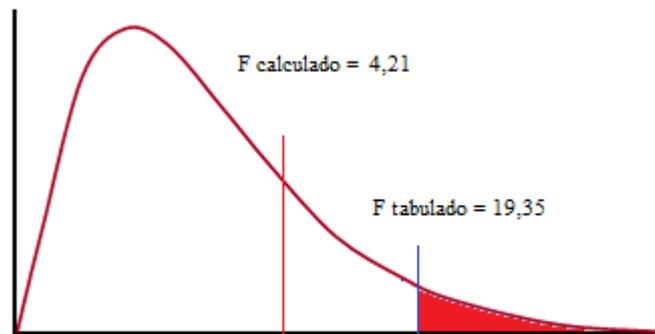
**Gráfico 19: Distribución F para *Listeria spp.***



**Gráfico 20: Distribución F para *E coli spp.***



**Gráfico 21: Distribución F para *Salmonella spp.***



El procedimiento de comprobación de hipótesis de Fisher establece la siguiente decisión:

- Si  $F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabulado}}$ , se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alternativa.
- Si  $F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabulado}}$ , se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa.

De acuerdo a los resultados obtenidos mediante la gráfica de los valores en la Distribución F se establece que:

$F_{\text{calculado}}$  (2.10, 3.15 y 4.21) en los tres casos es menor que el  $F_{\text{tabulado}}$  (19.35) obtenido de tablas, por lo tanto, se acepta la hipótesis alternativa que dice: Los extractos etanólicos y acuosos obtenidos a partir de la *Physalis peruviana L* en los diversos tratamientos inhiben el crecimiento de las bacterias en estudio.

” esto se asevera por los resultados obtenidos en la fase experimental.

## CAPÍTULO VII

### 7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 7.1. CONCLUSIONES

- Se trabajó con los frutos de uvilla grado de madurez 3 y 5, que corresponden a semi-madura y madura. Se obtuvieron valores para los °Brix de 11 % y 17 % respectivamente, para el pH 3,4 y 3,8 y para la acidez 2,15 y 2,55 % respectivamente. Los sólidos solubles varían de acuerdo al grado de madurez del fruto; el pH y la acidez por la presencia de ácidos orgánicos en menor o mayor cantidad según el grado de madurez de la fruta.
- La evaluación antimicrobiana de los extractos de uvilla obtenido por dos métodos, sobre bacterias patógenas aisladas de 3 tipos de carne: cerdo, pollo y res, se observó claramente que el efecto antimicrobiano del extracto etanólicos fue el más eficiente con un halo de inhibición de 4mm de diámetro que correspondió al tratamiento T7 (muestra liofilizada de fruto maduro en etanol al 95 %) y en el acuoso no hubo presencia de halo de inhibición para ninguna de las muestras. Así mismo los extractos etanólicos con muestras liofilizadas para los tratamientos T1, T3 y T5 también presentaron halos de inhibición.
- Fue establecida la cinética de crecimiento de las bacterias, la misma que no se desarrolló de forma rápida, pues la acción del extracto etanólico de uvilla impidió que las bacterias patógenas tengan una fase de crecimiento exponencial ya que a medida que avanzó el tiempo las bacterias no se duplicaron, teniendo una velocidad de crecimiento mínima lo que provocó la muerte severa de las bacterias.

## 7.2. RECOMENDACIONES

- Evaluar estos métodos de obtención de extractos a partir de otro tipo de alimentos como el caso del ajo pues teóricamente presenta buenos efectos bactericidas que reduzcan los efectos de bacterias patógenas a su mínima expresión. Además, se podría considerar otros tipos de solventes orgánicos que mejoren la extracción de los principios activos y que conserven las características propias de los componentes bioactivos de los mismos.
- Concentrar los extractos en un rotavapor para evitar la pérdida de moléculas activas sensibles al calor y luego probar la eficiencia del mismo en bacterias patógenas.
- Utilizar uvillas en estado de madurez 6 para establecer si los componentes antimicrobianos mejoran cuando la fruta alcanza la madurez fisiológica o si estos a partir del tope máximo de madurez tienden a perder características de inhibición de crecimiento de bacterias.
- Probar la eficiencia antimicrobiana del extracto de uvilla sobre alimentos procesados como: (lácteos, cárnicos, bebidas, etc.) ya que la población accede a ellos con facilidad y son estos quienes tienden a causar las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) debido a que estos son de consumo directo.
- Establecer la cinética de crecimiento de las bacterias patógenas considerando diferentes concentraciones de extracto de uvilla y sobre productos en diferentes medios de conservación como pueden ser en productos refrigerados, curados, salados, entre otros.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Alparcana, I. et al., (2014) Evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos etanólico del fruto de *physalis peruviana* “aguaymanto” de diferentes lugares geográficos del Perú, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, tesis de grado. Lima – Perú.
2. Almenar, R. (2014) Determinación de la calidad higiénico-sanitaria y relación con la presencia de patógenos en moluscos bivalvos, tesis de posgrado. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia – España.
3. Aristizába, I. (2013) Uchuva (*physalis peruviana* L.): Estudio de su potencial aplicación en el desarrollo de alimentos con características funcionales, Corporación Universitaria Lasallista, tesis de grado. Antioquia Caldas – Colombia.
4. Bernal, R. (2012) Contribución al estudio farmacotécnica del extracto estandarizado de frutos de *physalis peruviana* L. con miras a la obtención de un producto fitoterapéutico, Universidad Nacional de Colombia, tesis de grado. Bogotá – Colombia.
5. Cortes D. et al., (2015) Caracterización bromatológica y fisicoquímica de la uchuva (*Physalis peruviana* L.) y su posible aplicación como alimento nutracéutico, Revista Ciencia en Desarrollo, Vol. 6 No. 1 ISSN 0121-7488, pp. 87-97, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Medellín - Colombia.
6. Choco, M. (2014) Variación del potencial antioxidante durante la maduración de uvilla (*physalis peruviana* L.) y su estabilidad frente a tratamientos térmicos, Universidad del Azuay, tesis de grado. Cuenca – Ecuador.

7. Dos Santos, E. (2007) Estudio del comportamiento cinético de microorganismos de interés en seguridad alimentaria con modelos matemáticos, Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona – España.
8. Erazo, P. (2013) Separación y caracterización de los metabolitos secundarios de la hiedra (*hedera hélix*) de Ecuador con fines de aporte a una técnica de identificación, Escuela Politécnica de Chimborazo, tesis de grado. Riobamba – Ecuador.
9. Franco, O. et al., (2013) Actividad antimicrobiana in vitro de extractos y fracciones de (*Physalis Peruviana L.* y *caesalpinia pulcherrima L.*) swartz, boletín latinoamericano y del caribe de plantas medicinales y aromáticas 12(3):230-237 ISSN 0717 7917. Cartagena (Bolívar) - Colombia.
10. Franco, L. et al., (2007) Actividad antiinflamatoria de extractos y fracciones obtenidas de cálices de *Physalis peruviana L.* Rev. Biomédica 2007. Universidad de Cartagena. Bogotá – Colombia.
11. Fischer, G. et al., (2013) Importancia y cultivo de la uchuva (*physalis peruviana l.*), rev. Bras. Frutic, jaboticabal, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá – Colombia.
12. García, P. (2015) Cambios físico-químicos durante el proceso de maduración de uvilla (*physalis peruviana*) orgánica, Universidad Tecnológica Equinoccial, tesis de grado. Quito – Ecuador.
13. Gerhard, F. (2011), Poscosecha y exportación de la uchuva en Colombia, facultad de ciencias agrarias, Universidad Nacional de Colombia, manual para el cultivo de frutales en el trópico. Bogotá – Colombia.
14. Herrera, V. (2014) Evaluación del proceso de maduración de la uvilla (*physalis peruviana*) mediante la cuantificación de azúcares, almidón e invertasa para

determinar el tiempo adecuado de cosecha, Universidad Técnica de Ambato, tesis de grado.

15. Juntamay, T. (2010) Evaluación nutricional de la uvilla (*physalis peruviana* L.) deshidratada, a tres temperaturas mediante a un deshidratador de bandejas, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Tesis de grado.
16. Larcher, L. et al., (2009) Comparación de curvas de crecimiento bacteriano obtenidas mediante autómatas celulares bi y tridimensionales, *Mecánica Computacional Vol XXVIII*, págs. 2085-2099 Universidad Nacional de Santiago del Estero.
17. Lizcano, Z. et al., (2008) Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanolicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales (*Valeriana pilosa*, *hesperomeles ferruginea*, *myrcianthes* y *pasiflora manicata*) frente a microorganismos patógenos y fitopatogenos, tesis microbiología industria Bogotá D.C., Colombia, Pontificia Universidad Javeriana. 22 p.
18. Malik, et al., (2009), Preservation and storage of biotechnologically important microorganisms. *Chimicago*.
19. Marín, A. et al., (2010) Frutos de uvilla (*physalis peruviana* L.) ecotipo “Colombia” mínimamente procesados, adicionados con microorganismos prebióticos utilizando la ingeniería de matrices, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, *Rev Chil Nutr Vol. 37, N°4*.
20. Medina, D. (2012) Implementación de una metodología para la obtención de marcadores de frutos de *Physalis peruviana* L., y evaluación de actividad hipoglicemiante, Universidad Nacional de Colombia, tesis magistral.

21. Mendoza, J. et al., (2012) caracterización físico química de la uchuva (*Physalis peruviana*) en la región de Silvia cauca, *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* Vol 10 No. 2 (188 - 196).
22. Molina, J. (2014) Determinación del contenido de compuestos cianogénicos en hojas y capuchones de uvilla (*Physalis peruviana* L.) perteneciente al ecotipo colombiano y sus implicaciones en la elaboración de té, universidad técnica de Ambato, tesis de grado.
23. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2 485:2009, frutas frescas. uvilla. Ecuador.
24. Quispillo, J. (2013) Separación, purificación y posible identificación de metabolitos secundarios del escobillón rojo (*Callistemon speciosus*), Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, tesis de grado.
25. Puente, L. et al., (2011) *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit; a review, *Food Research International* 44 (2011) 1733–1740. Medellín – Colombia.
26. Ramírez, L. et al., (2009) Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal, *Scientia et Technica* Año XV, No 42, Universidad Tecnológica de Pereira. ISSN 0122-1701.
27. Raberón, E. et al., (2012) Estación de trabajo para el estudio de la cinética de crecimiento de *Escherichia coli* mediante el método de turbidez, *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, Vol. 43, No. 2.
28. Rojas, A. (2014) Elaboración y evaluación nutricional de carne de res marinada y deshidratada en desecador de bandejas, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, tesis de grado.

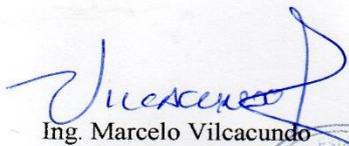
29. Torres, J. (2011) Elaboración de néctar de uvilla (*physalis peruviana* L.), utilizando sacarina, dos concentraciones de estabilizante y dos tiempos de pasteurización, universidad técnica del norte – Ecuador, tesis de grado.
  
30. Toapanta, S. (2012) Cambios en la capacidad antioxidante durante el almacenamiento refrigerado de uvilla (*physalis peruviana* L.) orgánica sin capuchón tratada con radiación UV-C.

ANEXO 1. Mapa de ubicación del experimento



## ANEXO 2 Resultados de análisis físico-químico.

UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVIA						
						
<b>DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN</b>						
<b>LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA</b>						
<b>Laguacoto 2</b>						
<b>CERTIFICADO DE ANALISIS DE LABORATORIO</b>						
<b>Información del solicitante:</b>						
Solicitante: Angel Gregorio Yanchaliquin Quishpe Y Maria Magdalena Lopez Estrada				Teléfono : 0981912533		
Dirección: Laguacoto 2				Ciudad : Guaranda		
<b>Descripción de la muestra:</b>						
Producto: frutos de uvilla (physalis peruviana l.)						
Tipo de envase: plásticos						
Conservación: refrigeración						
No de muestras 9						
RESULTADOS OBTENIDOS DE MICROBIOLOGÍA						
N. Muestras	Código Laboratorio	Código Solicitante	Ensayos Solicitados	Métodos Utilizados	Unidades	Resultados
1	0000061	Uvilla semi-madura	Acidez Titulable	NTE INEN 381	%	2.18
2	0000062	Uvilla semi-madura	Acidez Titulable	NTE INEN 381	%	2.24
3	0000063	Uvilla semi-madura	Acidez Titulable	NTE INEN 381	%	2.21
4	0000064	Uvilla madura	Acidez Titulable	NTE INEN 381	%	2.58
5	0000065	Uvilla madura	Acidez Titulable	NTE INEN 381	%	2.52
6	0000066	Uvilla madura	Acidez Titulable	NTE INEN 381	%	2.55

  
Ing. Marcelo Vilcacundo

**DIRECTOR DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION**

  
Bga. Isabel Paredes

**TECNICO DOCENTE**



# UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR



DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN

LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA

Laguacoto 2

CERTIFICADO DE ANALISIS DE LABORATORIO

**Información del solicitante:**

Solicitante: Angel Gregorio Yanchaliquin Quishpe Y  
Maria Magdalena López Estrada

Teléfono : 0981912533

Dirección: Laguacoto 2

Ciudad : Guaranda

**Descripción de la muestra:**

Producto: frutos de uvilla (physalis peruviana l.)

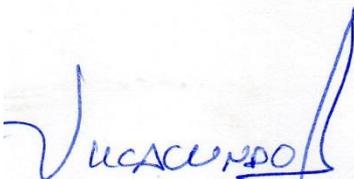
Tipo de envase: plásticos

Conservación: refrigeración

No de muestras 9

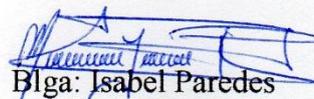
## RESULTADOS OBTENIDOS DE MICROBIOLOGÍA

N. Muestras	Código Laboratorio	Código Solicitante	Ensayos Solicitados	Métodos Utilizados	Unidades	Resultados
1	0000055	Uvilla semi-madura	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 1842	%	3.6
2	0000056	Uvilla semi-madura	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 1842	%	3.5
3	0000057	Uvilla semi-madura	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 1842	%	3.6
4	0000058	Uvilla madura	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 1842	%	3.8
5	0000059	Uvilla madura	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 1842	%	3.9
6	0000060	Uvilla madura	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 1842	%	3.8

  
Ing. Marcelo Vilcacundo

**DIRECTOR DEPARTAMENTO DE  
INVESTIGACION**



  
Blga. Isabel Paredes

**TECNICO DOCENTE**



# UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR



DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN

LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA

Laguacoto 2

CERTIFICADO DE ANALISIS DE LABORATORIO

**Información del solicitante:**

Solicitante: Angel Gregorio Yanchaliquin Quishpe Y  
Maria Magdalena López Estrada

Teléfono : 0981912533

Dirección: Laguacoto 2

Ciudad : Guaranda

**Descripción de la muestra:**

Producto: Frutos de uvilla (physalis peruviana l.)

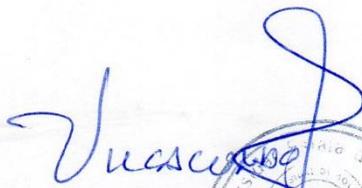
Tipo de envase: plásticos

Conservación: refrigeración

No de muestras 9

## RESULTADOS OBTENIDOS DE MICROBIOLOGÍA

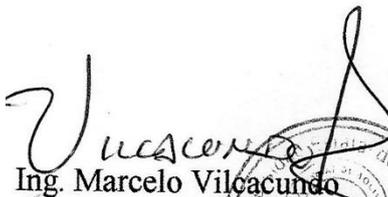
N. Muestras	Código Laboratorio	Código Solicitante	Ensayos Solicitados	Métodos Utilizados	Unidades	Resultados
1	0000049	Uvilla semi-madura	BRIX	NTE INEN 380	%	11
2	0000050	Uvilla semi-madura	BRIX	NTE INEN 380	%	12
3	0000051	Uvilla semi-madura	BRIX	NTE INEN 380	%	10
4	0000052	Uvilla madura	BRIX	NTE INEN 380	%	18
5	0000053	Uvilla madura	BRIX	NTE INEN 380	%	19
6	0000054	Uvilla madura	BRIX	NTE INEN 380	%	17

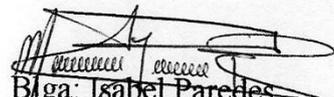
  
Ing. Marcelo Vilcacundo  


  
Blga. Isabel Paredes  
TECNICO DOCENTE

**DIRECTOR DEPARTAMENTO DE  
INVESTIGACION**

	0000012	T4r2	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 2485	%	3.62
13	0000013	T5r2	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 2485	%	3.50
14	0000014	T6r2	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 2485	%	3.70
15	0000015	T7r2	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 2485	%	3.06
16	0000016	T8r2	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 2485	%	3.82
17	0000017	T1r3	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 2485	%	4.80
18*	0000018	T2r3	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 2485	%	3.75
19	0000019	T3r3	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 2485	%	4.50
20	0000020	T4r3	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 2485	%	3.70
21	0000021	T5r3	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 2485	%	4.30
22	0000022	T6r3	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 2485	%	3.68
23	0000023	T7r3	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 2485	%	3.01
24	0000024	T8r3	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 2485	%	3.81

  
 Ing. Marcelo Vilcacundo  
**DIRECTOR DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION**

  
 B. Isabel Paredes  
**TECNICO DOCENTE**



# UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR



DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN

LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA

Laguacoto 2

## CERTIFICADO DE ANALISIS DE LABORATORIO

### Información del solicitante:

Solicitante: Angel Gregorio Yanchaliquin Quishpe Y  
Maria Magdalena López Estrada

Teléfono : 0981912533

Dirección: Laguacoto 2

Ciudad : Guaranda

### Descripción de la muestra:

Producto: estratos de uvilla

Tipo de envase: vidrio color ámbar

Conservación: refrigeración

No de muestras 24

## RESULTADOS OBTENIDOS DE MICROBIOLOGÍA

N. Muestras	Código laboratorio	Código Solicitante	Ensayos Solicitados	Métodos Utilizados	Unidades	Resultados
1	0000001	T1r1	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 2485	%	4.92
2	0000002	T2r1	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 2485	%	3.75
3	0000003	T3r1	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 2485	%	3.27
4	0000004	T4r1	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 2485	%	3.77
5	0000005	T5r1	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 2485	%	4.84
6	0000006	T6r1	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 2485	%	3.77
7	0000007	T7r1	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 2485	%	2.92
8	0000008	T8r1	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 2485	%	3.84
9	0000009	T1r2	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 2485	%	4.70
10	0000010	T2r2	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 2485	%	3.74
11	0000011	T3r2	Potencial de hidrógeno	NTE INEN 2485	%	4.56



# UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR



DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN

LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA

Laguacoto 2

## CERTIFICADO DE ANALISIS DE LABORATORIO

### Información del solicitante:

Solicitante: Angel Gregorio Yanchaliquin Quishpe Y  
Maria Magdalena López Estrada

Teléfono : 0981912533

Dirección: Laguacoto 2

Ciudad : Guaranda

### Descripción de la muestra:

Producto: frutos de uvilla (physalis peruviana l.)

Tipo de envase: plásticos

Conservación: refrigeración

No de muestras 9

## RESULTADOS OBTENIDOS DE MICROBIOLOGÍA

N. Muestras	Código Laboratorio	Código Solicitante	Ensayos Solicitados	Métodos Utilizados	Unidades	Resultados y/o Escalas
1	000067	Uvilla semi-madura	Escala de madurez	NTE INEN 381	%	3
2	000068	Uvilla semi-madura	Escala de madurez	NTE INEN 381	%	3
3	000069	Uvilla semi-madura	Escala de madurez	NTE INEN 381	%	3
4	000070	Uvilla madura	Escala de madurez	NTE INEN 381	%	5
5	000071	Uvilla madura	Escala de madurez	NTE INEN 381	%	5
6	000072	Uvilla madura	Escala de madurez	NTE INEN 381	%	5

Ing. Marcelo Vilcacundo

**DIRECTOR DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION**



Btga. Isabel Paredes

**TECNICO DOCENTE**

### **ANEXO 3**

#### **Esquema del experimento**

<b>T1</b>	<b>T1</b>	<b>T1</b>
<b>T2</b>	<b>T2</b>	<b>T2</b>
<b>T3</b>	<b>T3</b>	<b>T3</b>
<b>T4</b>	<b>T4</b>	<b>T4</b>
<b>T5</b>	<b>T5</b>	<b>T5</b>
<b>T6</b>	<b>T6</b>	<b>T6</b>
<b>T7</b>	<b>T7</b>	<b>T7</b>
<b>T8</b>	<b>T8</b>	<b>T8</b>

## ANEXO 4

### Base de datos

#### VALORES DE pH OBTENIDOS EN LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS

N° Tratamientos	Código	Replica 1	Replica 2	Replica 3
1	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	4,92	4,70	4,8
2	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	3,75	3,74	3,75
3	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> c <sub>1</sub>	3,27	5,05	4,50
4	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> c <sub>2</sub>	3,77	3,62	3,70
5	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	4,84	3,50	4,30
6	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	3,77	3,70	3,68
7	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> c <sub>1</sub>	2,93	3,06	3,01
8	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> c <sub>2</sub>	3,84	3,82	3,81

#### PARÁMETRO FÍSICO-QUÍMICOS REALIZADOS A LA MATERIAS

##### PRIMAS

Uvilla	pH	°Brix	Acidez titulable
Semi-maduro	3.43	11	2.15
Maduro	3.83	17	2.55

	Madurez de consumo		
	min	Max	Bibliografía
Acidez titulable % (ácido cítrico)	-	2.5	NTE INEN 2485, 2009.
Sólidos solubles totales, °Brix	10	-	NTE INEN 2485, 2009
Potencial de hidrógeno	3,39		Marín Zaira Tatiana <i>et al.</i> , 2010.

**VALORES DE VOLUMEN (ml) DE EXTRACTO OBTENIDOS EN LOS  
DIFERENTES TRATAMIENTOS**

<b>N° Tratamientos</b>	<b>Código</b>	<b>Replica 1</b>	<b>Replica 2</b>	<b>Replica 3</b>
1	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	77	83	86
2	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	78	79	87
3	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> c <sub>1</sub>	77	80	85
4	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> c <sub>2</sub>	78	82	86
5	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	79	81	83
6	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	78	80	79
7	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> c <sub>1</sub>	76	79	81
8	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> c <sub>2</sub>	80	78	78

## ANEXO 4

### FOTOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN



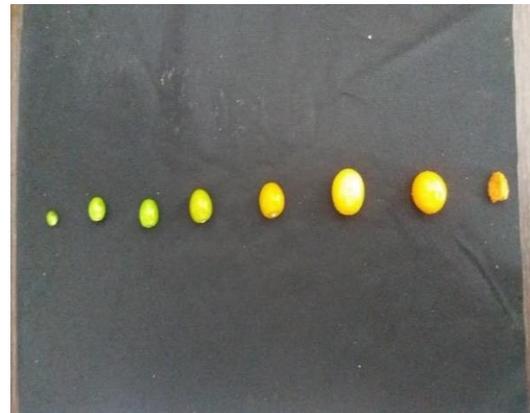
**UVILLA**



**RECEPCIÓN**



**CLASIFICACIÓN**



**DETERMINACIÓN DEL GRADO DE MADUREZ**



**DETERMINACIÓN DEL GRADO DE MADUREZ**



**ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS**



**OBTENCIÓN DEL EXTRACTO**



**TRITURACION DE LA MUESTRA**



**OBTENCIÓN DEL  
EXTRACTO**



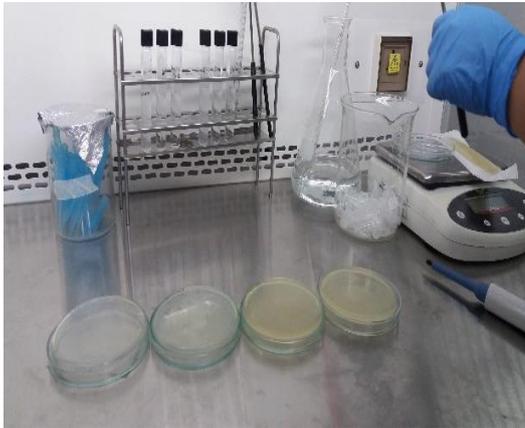
**OBTENCIÓN DEL  
EXTRACTO**



**OBTENCIÓN DEL  
EXTRACTO**



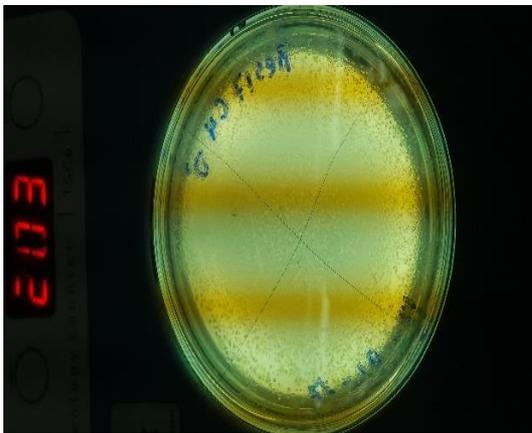
**OBTENCIÓN DEL  
EXTRACTO**



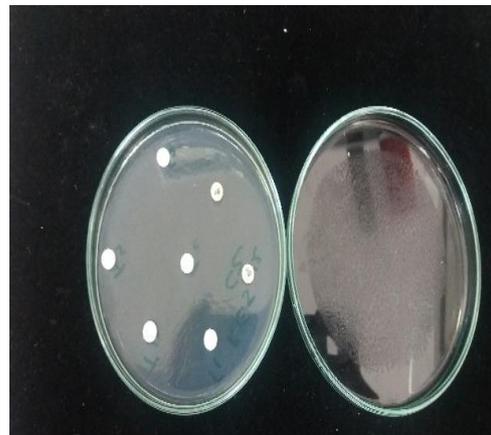
**SIEMBRA DE BACTERIAS**



**REANIMACION DE CEPAS**



**CONTEO DE COLONIAS**



**ANTIBIOGRAMA**

## ANEXO 6

### GLOSARIO DE TÉRMINOS

**Absorbancia:** es la intensidad de la luz con una longitud de onda específica tras haber atravesado una muestra (intensidad de la luz transmitida) es la intensidad de la luz antes de entrar a la muestra (intensidad de la luz incidente).

**Extracto:** Un extracto es una sustancia obtenida por extracción de una parte de una materia prima, a menudo usando un solvente como etanol o agua. Los extractos pueden comercializarse como tinturas o en forma de polvo.

**Extracto acuoso:** Preparación en agua de la sustancia de una planta o un animal que contiene la porción biológicamente activa sin el residuo celular.

**Extracto etílico:** Es un proceso de extracción sólido-líquido. El producto sólido (materia prima) posee una serie de compuestos solubles en el líquido extractante que son los que se pretende extraer.

**Liofilización:** La liofilización o deshidrocongelación es un proceso en el que se congela el producto y posteriormente se introduce en una cámara de vacío para realizar la separación del agua por sublimación.

**Metabolitos secundarios:** Los metabolitos secundarios son aquellos compuestos orgánicos sintetizados por el organismo que no tienen un rol directo en el crecimiento o reproducción del mismo. A diferencia de lo que sucede con los metabolitos primarios, la ausencia de algún metabolito secundario no le impide la supervivencia, si bien se verá afectado por ella, a veces gravemente.

**Quercetina:** (fórmula molecular:  $C_{15}H_{10}O_7$ ) es un flavonol que se encuentra presente generalmente como O - glicósidos y raramente como C - glicósidos en altas concentraciones tanto en frutas como en verduras en especial en la cebolla.

**Tratamiento:** Es una combinación de niveles del o los factores aplicados a las unidades experimentales, para poder observar el efecto que estos producen o no sobre la respuesta experimental.

**Uchuva:** La uchuva o uvilla (*physalis peruviana* L.) es una fruta que fue conocida por los incas. Es una planta originaria del Perú, entre Chile y Colombia crece como una planta silvestre o semi-silvestre en las zonas altas de 1500 a 3000 m.s.n.m.

**UFC:** Unidades formadoras de colonia, utilizadas regularmente para expresar resultados microbiológicos.