

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA

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.

Proyecto de Investigación (Graduación), Modalidad: Trabajo Estructurado de Manera Independiente (TEMI) presentado como requisito previo a la obtención del Título de Ingeniero Bioquímico, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería En Alimentos.

Autor: Jaime Vinicio Herrera Villarroel

Tutora: Ing. Mg. Cecilia Carpio

Ambato - Ecuador

2014

APROBACIÓN DE LA TUTORA

Ing. Mg. Cecilia Carpio

Siendo la Tutora del Trabajo de Investigación bajo el tema: “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.”, realizado por el egresado Jaime Vinicio Herrera Villarroel; tengo a bien afirmar que el estudio es idóneo y reúne los requisitos de un trabajo de investigación de Ingeniería Bioquímica; y el señor egresado posee los méritos académicos suficientes para ser sometido a la evaluación del Jurado Examinador que sea designado por el H. Consejo Directivo de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

Ambato, Agosto del 2014.

.....
Ing. Mg. Cecilia Carpio

TUTORA

AUTORÍA

El presente trabajo de investigación: “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.”, es absolutamente original, auténtico y personal, en tal virtud, el contenido y efectos académicos que se desprendan del mismo son de exclusiva responsabilidad del autor.

Ambato, Agosto del 2014.

.....
Jaime Vinicio Herrera Villarroel

CI: 180434196-2

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA

Los miembros del Tribunal de Grado aprueban el presente Trabajo de Graduación de acuerdo a las disposiciones emitidas por la Universidad Técnica de Ambato.

Ambato, Agosto del 2014.

Para constancia firman:

.....
Ing. Mg Gladys Navas Miño.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

.....
Químico Lander Pérez
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

.....
Ing. Mg. Manolo Córdova
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DEDICATORIA

Primero a Dios
Por otorgarme muchas bendiciones a lo largo de mi
carrera.

A mis Padres Jaime y María
por su apoyo incondicional hacia el cumplimiento de
mis objetivos, eterno cariño, ejes fundamentales en mi
vida.

A mi Hermana Diana
por ser uno de mi motivación para seguir adelante.

A la memoria de mi Segundo Padre Lino Herrera
quien me enseñó afrontar con valor y esfuerzo los
momentos difíciles de la vida.

A todos los familiares y amigos
que hicieron posible alcanzar mis metas.

Vinicio

AGRADECIMIENTO

El más sincero agradecimiento hacia mis Padres Jaime y María, mi Hermana Diana por su incondicional apoyo y palabras de aliento

Mis agradecimientos a la Universidad Técnica de Ambato Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Carrera de Ingeniería Bioquímica por los conocimientos adquiridos.

Al Ing. Mg. Cecilia Carpio. Por su confianza y paciencia depositada en mí desde el primer momento de la realización de mi trabajo de investigación.

A la Asociación Artesanal Tierra Productiva del cantón Quero, por brindarme la oportunidad de realizar mi trabajo de investigación.

A los familiares, amigos y personas que colaboraron en este mi proyecto de graduación.

ÍNDICE

CAPÍTULO I.....	10
EL PROBLEMA.....	12
Tema de Investigación:.....	12
Planteamiento de Problema:.....	12
1.2.1 Contextualización.....	12
1.2.2 Análisis Crítico.....	15
1.2.3 Prognosis.....	16
1.2.4 Formulación Del Problema.....	16
1.2.5 Preguntas Directrices.....	17
1.2.6 Delimitación Del Problema.....	17
Justificación.....	18
Objetivos.....	19
1.4.1 Objetivo General.....	19
1.4.2 Objetivos Específicos.....	19
CAPÍTULO II.....	20
MARCO TEÓRICO.....	20
Antecedentes Investigativos.....	20
Fundamento Filosófico.....	23
Fundamento Legal.....	24
Categorías Fundamentales.....	34
2.4.1 Gráficos de inclusión interrelacionados.....	34
Hipótesis.....	35
2.5.1 Hipótesis nula (H_0):.....	35
2.5.2 Hipótesis Alternativa (H_1).....	35
Señalamiento De Variables De La Hipótesis.....	35
2.6.1 Variable independiente:.....	35
2.6.2 Variable dependiente:.....	35
CAPÍTULO III.....	36
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	36
Enfoque.....	36
Modalidad básica de la investigación.....	36
Nivel O Tipo De Investigación.....	37
3.3.1 Exploratorio.....	37

3.3.2 Descriptivo.....	37
Población Y Muestra.....	37
3.4.1 Población.....	37
3.4.2 Muestra.....	37
Operacionalización De Variables.....	38
3.5.1 Operacionalización de la variable independiente: Parámetros óptimos de maduración...	
.....	
...38	
3.5.2 Operacionalización de la variable dependiente: Cuantificación de almidón, azúcares e invertasa.....	39
Recolección de Información.....	40
3.6.1 Preparación de las muestras para análisis.....	40
3.6.2 Cuantificación de Almidón.....	41
3.6.3 Preparación de la curva estándar de glucosa con DNS.....	41
3.6.4 Cuantificación de Glucosa.....	44
3.6.4 Curva de Calibración para Glucosa con Reactivo MR.....	46
3.6.5 Cuantificación de Sacarosa.....	46
3.6.6 Cuantificación de Azúcares Reductores.....	48
3.6.7 Determinación de la Actividad Enzimática de la Invertasa.....	49
Procesamiento y Análisis.....	50
CAPÍTULO IV.....	51
ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	51
Cuantificación de Almidón.....	52
Cuantificación de Glucosa.....	54
Cuantificación de Sacarosa.....	55
Cuantificación de Azúcares Reductores.....	56
Determinación De La Actividad Enzimática De La Invertasa.....	57
Verificación de hipótesis.....	61
CAPÍTULO V.....	62
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	62
Conclusiones.....	62
Recomendaciones.....	64
CAPÍTULO VI.....	65
PROPUESTA.....	65

Datos informativos.....	65
Antecedentes de la propuesta.....	66
Justificación.....	67
Objetivos.....	67
6.4.1 Objetivo General.....	67
6.4.2 Objetivos específicos.....	68
Análisis de factibilidad.....	68
Fundamentación.....	68
Metodología.....	69
6.7.1 Siembra por tutoreo.....	70
6.7.2 Análisis de Glucosa.....	70
6.7.3 Análisis de °Brix.....	71
Administración de la propuesta.....	72
Previsión de la evaluación.....	73
7 Bibliografía.....	74
ANEXO A.....	78
RESPUESTAS EXPERIMENTALES.....	78
Tabla A1. Pesos de uvillas verdes, pintonas y maduras con y sin tutoreo.....	79
Tabla A2. Lecturas de ° Brix, ph, humedad, de uvillas verdes, pintonas y maduras con y sin tutoreo.....	79
Tabla A3. Datos de absorbancia de la curva estándar de glucosa para lectura de almidón.....	80
Gráfico A1. Curva estándar de Glucosa, para la cuantificación de Almidón y Azúcares Reductores.....	80
Tabla A4. Lecturas de absorbancia a 540 nm para la cuantificación de almidón en muestra de uvilla con y sin tutoreo para los tres estados de madurez.....	81
Tabla A5. Contenido de almidón obtenido de uvillas con y sin tutoreo en base seca. .	81
Gráfico A2. Cantidad de almidón en uvillas con y sin tutoreo.....	82
Tabla A6. Pesos de los componentes de la solución stock de glucosa.....	83
Tabla A7. Lecturas de absorbancia de glucosa para los tres estados de madurez de la uvilla, cultivada con y sin tutoreo.....	83
Tabla A8. Datos para la curva estándar de glucosa.....	84
Tabla A9. Datos de absorbancia de la curva de calibración en base a pesos de glucosa.....	84
Gráfico A3. Curva de calibración de Glucosa en base a pesos.....	85

Tabla A10. Contenido en gr de glucosa por 100 gr de uvilla seca obtenida de uvillas con y sin tutoreo en base seca.....	85
Gráfico A4. Contenido de glucosa en uvillas con diferentes grados de madurez, cultivadas con y sin tutoreo.....	86
Tabla A11. Lecturas de absorbancia de sacarosa a 500 nm para los tres estados de madurez de la uvilla con y sin tutoreo.....	87
Tabla A12. Contenido en gr sacarosa y glucosa por 100 gr de uvillas secas con y sin tutoreo.....	87
Tabla A13. Contenido en gr sacarosa y glucosa por 100 gr de uvillas secas con y sin tutoreo.....	88
Gráfico A5. Cantidad de sacarosa en uvillas con y sin tutoreo.....	88
Tabla A14. Lecturas de absorbancia de azúcares reductores a 540 nm para muestras de uvilla con tres estados de madurez cultivadas con y sin tutoreo.....	89
Tabla A15. Cantidad en gr de azúcares reductores por 100 gr de uvilla seca obtenida en uvillas con y sin tutoreo.....	89
Gráfico A6. Cantidad de azúcares reductores en uvillas con distinto grado de madurez, cultivados con y sin tutoreo.....	90
Tabla A16. Lecturas de absorbancia a(540 nm) de azúcares reductores generados durante la determinación de actividad de la invertasa para muestras de uvilla, con tres estados de madurez cultivada sin tutoreo.....	91
Tabla A17. Lecturas de absorbancia a(540 nm) de azúcares reductores generados durante la determinación de actividad de la invertasa para muestras de uvilla, con tres estados de madurez cultivada con tutoreo.....	92
Tabla A18. Contenido de azúcares reductores producidos durante la hidrólisis de sacarosa producida por la invertasa para muestras de uvillas sin tutoreo con tres estados de madurez expresados en mg/ml de azúcares reductores para uvilla sin tutoreo.....	93
Gráfico A7. Cinética de formación de producto de la enzima de Uvilla Sin Tutoreo....	93
Tabla A19. Contenido de azúcares reductores producidos durante la hidrólisis de sacarosa producida por la invertasa para muestras de uvillas sin tutoreo con tres estados de madurez expresados en mg/ml de azúcares reductores para uvilla con tutoreo.....	94
Gráfico A8. Cinética de formación de producto de la enzima de Uvilla Con Tutoreo...	94
ANEXO B.....	95
ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	95
Tabla B1. Análisis de varianza del contenido de almidón en muestras de uvilla con diferentes estados de madurez la uvilla, cultivadas con y sin tutoreo.....	96
Tabla B2. TUKEY Prueba de comparación múltiple para el estado de madurez.....	96
Tabla B3. Prueba de comparación múltiple para la aplicación de tutoreo.....	96

Tabla B4. Prueba de comparación múltiple para el interacción de estado de madurez y aplicación de tutorio.....	97
Gráfico B1. Interacción de estado de madurez y aplicación de tutorio en el contenido de almidón.....	97
Tabla B6. Análisis de varianza del contenido de glucosa realizada con muestras de uvilla cultivada con y sin tutorio a los diferentes estados de madurez.....	98
Tabla B7. Prueba de comparación múltiple del contenido de glucosa para el estado de madurez.....	98
Tabla B8. Prueba de comparación múltiple para análisis de glucosa con y sin tutorio	98
Tabla B9. Prueba de comparación múltiple para la interacción del estado de madurez y aplicación de tutorio.....	99
Gráfico B2. Interacción de estado de madurez y aplicación de tutorio para el contenido de glucosa.....	99
Tabla B10. Análisis de varianza de la actividad enzimática realizada con extractos obtenidos de muestras de uvilla con diferentes estados de madurez para fruta cultivada con y sin tutorio.....	100
Tabla B11. Pruebas de comparación múltiple de la actividad invertásica para aplicación de tutorio.....	100
Tabla B12 Prueba de comparación múltiple de actividad invertásica para el estado de madurez.....	100
Tabla B13. Prueba de comparación múltiple para el tiempo actividad de la enzima.	101
Tabla B14 Prueba de comparación múltiple para interacción de aplicación de tutorio y estado de madurez.....	101
Tabla B15 Prueba de comparación múltiple para interacción la aplicación de tutorio y tiempo de la actividad enzimática.....	101
Tabla B16 Prueba de comparación múltiple para interacción del estado de madurez y tiempo de la actividad de enzima.....	102
Tabla B17. Prueba de comparación múltiple para la interacción de aplicación de tutorio, estado de madurez y tiempo de actividad de la enzima.....	103
Gráfico B3. Interacción del estado madurez y aplicación de tutorio de la enzima. . .	104
Gráfico B4. Interacción del tutorio y tiempo de actividad de la enzima.....	104
Gráfico B5. Interacción del estado madurez y tiempo de actividad de la enzima.	105
ANEXO C.....	106
FOTOGRAFÍAS.....	106
Imagen C1. Cuadro de color en la maduración de la uvilla (<i>Physalis peruviana</i>).....	107
Fotografía C1: Uvillas (<i>Physalis peruviana</i>) verde sin tutorio).....	108
Fotografía C2: Uvillas (<i>Physalis peruviana</i>) verde con tutorio.....	108

Fotografía C3: Uvillas (<i>Physalis peruviana</i>) pintona sin tutoreo.....	108
Fotografía C4: Uvillas (<i>Physalis peruviana</i>) pintona con tutoreo.....	109
Fotografía C5: Uvillas (<i>Physalis peruviana</i>) madura sin tutoreo.....	109
Fotografía C6: Uvillas (<i>Physalis peruviana</i>) madura con tutoreo.....	109
Fotografía C7: Prevaricación de muestra de uvillas.....	110
Fotografía C7: Muestra de uvillas para análisis de azúcares y almidón sin tutoreo. .	110
Fotografía C8: Muestra de uvillas para análisis de azúcares y almidón con tutoreo. .	110
Fotografía C9: Centrifuga con muestra de uvillas para análisis de almidón y azúcares.....	
.....	111
Fotografía C10: Liberación de etanol de muestras para análisis de azúcares.....	111
Fotografía C11: Preparación para análisis de glucosa.....	111
Fotografía C12: Muestras para análisis de glucosa.....	112

“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”

Herrera, Vinicio y Carpio, Cecilia
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO.
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
e-mail: rokrss@gmail.com
AMBATO – ECUADOR

RESUMEN

El presente trabajo de investigación, se orientó a seguir el proceso de maduración de la uvilla (*Physalis peruviana*) con tutoreo y sin tutoreo, mediante la cuantificación de almidón, azúcares y la cinética de hidrólisis de la sacarosa catalizada por la invertasa

Se evidenció que el contenido promedio de almidón y azúcares así como la actividad de la invertasa fue mayor en las muestras de uvilla cultivadas con tutoreo durante los tres estados de madurez estudiados. Así, el contenido promedio de almidón en la uvilla verde sin tutoreo fue de $6,48 \pm 0,58$ gr almidón/100 gr de uvilla seca, mientras que en uvillas verdes con tutoreo fue de $9,63 \pm 0,30$ gr almidón/100 gr de uvilla seca y descendió en los dos casos a medida que avanzó el proceso de maduración hasta $2,70 \pm 0,55$ gr almidón/100 gr de uvilla seca, en uvillas cultivadas con tutoreo y $2,82 \pm 0,62$ gr almidón/100 gr de uvilla seca en uvillas que crecieron sin tutoreo. El contenido de glucosa presente en uvillas maduras sin tutoreo fue de $3,377 \pm 0,08$ gr glucosa/100 gr de uvilla seca, y para uvillas maduras con tutoreo fue de $3,674 \pm 0,02$ gr glucosa/100 gr de uvilla seca, y la actividad de la invertasa determinada a través del contenido de azúcares reductores producidos por la acción hidrolítica de la enzima sobre sacarosa fue más alta en el extracto obtenido a partir de uvillas maduras: $0,62 \pm 0,03$ mg/ml para uvillas cultivadas sin tutoreo y $0,86 \pm 0,02$ mg/ml en uvillas maduras con tutoreo.

Consecuentemente, la aplicación del tutoreo brinda mejores resultados en el cultivo de la uvilla debido a que proporciona un soporte a la planta, mejor aireación en el fruto y la oportunidad de aprovechar de una mejor manera la luz

solar, como se constata en los niveles más altos de almidón, glucosa, e invertasa obtenidos en este tratamiento que constituye el mejor tratamiento.

Palabras clave: uvilla, *Physalis peruviana*, tutoreo, almidón, invertasa.

CAPÍTULO I

1. EL PROBLEMA

1.1 Tema de investigación:

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

1.2 Planteamiento de problema:

1.2.1 Contextualización

1.2.1.1 Contextualización macro

La uvilla es una fruta de origen americano, que pertenece al grupo de frutas semi-ácidas, es una baya carnosa formada por carpelos soldados entre sí, es redonda, amarilla, dulce y pequeña con una cáscara protectora, derivada de una planta herbácea silvestre (Flores et al., 2009).

El diámetro del fruto varía de 0.8 a 2.0 cm. A este fruto se le conoce con diferentes nombres en varias regiones y países como: uvilla en Ecuador, topo-topo en Venezuela, cereza del Perú en Perú, uchuva en Colombia y cereza del cabo en Sudáfrica (La coctelera, 2013).

La uvilla es rica en vitaminas A y C, además contiene Calcio y Fósforo; contribuye a la purificación de la sangre, elimina la albúmina de los riñones, reconstruye y fortifica el nervio óptico, y es muy eficaz en el tratamiento de afecciones de la garganta, también se le atribuye propiedades calcificadoras, es recomendada en dietas para el control de la diabetes; sus propiedades diuréticas ayudan en el tratamiento de los problemas de próstata y el zumo de uvilla madura sirve para curar cataratas aplicando unas gotas diariamente (Rotger, 2013).

1.2.1.2 Contextualización meso

Gracias a las condiciones geográficas y climáticas de los andes ecuatorianos podemos aprovechar sus ventajas naturales para el cultivo de uvilla ya que proporcionan las condiciones favorables para su óptimo desarrollo. La uvilla forma parte de la ecología del Ecuador y se encuentra en diferentes provincias como Cotopaxi, Tungurahua, Imbabura, Carchi, Pichincha, etc. (Ecofinsa, 2011).

Las condiciones favorables del clima y suelo del Ecuador, permiten la producción agrícola de calidad para el mercado nacional e internacional. La constante demanda de nuevos productos en el mercado mundial, ha impulsado la diversificación de la producción y exportación en el Ecuador, esto debido a la promoción de cultivos no tradicionales, entre los cuales está la uvilla (Brito, 2002).

A partir de los años 80, la uvilla empieza a tener valor económico, debido a características como: aroma, sabor dulce y bondades nutricionales y medicinales conocidas en la actualidad como nutraceuticas. Esto ha permitido que la demanda se incremente así como su producción, y se la encuentre en la mayoría de mercados y supermercados del país (Brito, 2002).

A nivel de país, desde hace una década la fruta ha cobrado interés en el mercado nacional e internacional, incentivándose su cultivo en la serranía norte, provincias de Tungurahua, y Pichincha principalmente, extendiéndose su producción a las provincias de Azuay y Loja (MAGAP, 2013).

1.2.1.3 Contextualización micro

En Tungurahua, el cantón Quero impulsa el cultivo de la uvilla, particularmente, la Asociación Artesanal “Tierra Productiva”. Al momento, su fuerte es la producción y comercialización de uvilla, pero también aspiran a producir

derivados con esta fruta, y para ello planifican estrategias en busca de entidades que apoyen su iniciativa para conseguir la maquinaria necesaria para la producción.

Los agricultores y productores de uvilla del cantón Quero pertenecientes a la Asociación Tierra Productiva emprendieron en un proyecto de mejoramiento agroindustrial de la uvilla, mediante el uso de abono orgánico y manejo tecnológico adecuado para incrementar su producción, evitando el empleo de fungicidas químicos con el claro objetivo de mejorar el nivel de vida de los socios y disminuir la contaminación ambiental.

El organismo artesanal posee una microempresa con los equipos necesarios para producir helados, mermelada de uvilla. Actualmente elaboran helados con esta fruta y otras que se producen en el cantón los cuales son comercializados en Tungurahua. Además han llevado sus productos (helados y mermeladas) a diferentes ferias productivas desarrolladas en la provincia y el país.

Adicionalmente, se plantean ampliar la oferta de productos elaborados a través de la producción de uvillas deshidratadas, pulpa y productos de la fermentación acética con el apoyo de la FCIAL a través de nuevos proyectos de investigación y de vinculación con la comunidad, tomando en consideración que las uvillas cuentan con vitaminas reconocidas que sirven para contrarrestar enfermedades.

1.2.2 Análisis crítico

1.2.2.1 Árbol de problemas

EFFECTOS

Escasos estudios sobre pa... durez de la uvilla

Desperdicio de frut...

Inexistencia de los parámetros postcosecha de la uva en el momento del fruto de la uvilla en proce...
Apreciación empírica (subjetiva) de la madu...
Consumi...

PROBLEMA

Limitada disponibilidad en el mercado de... cosechada con el gra...

CAUSAS

Figura 1. Árbol de problemas
Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014.

1.2.2.2 Relación causa – efecto.

Causa

Apreciación empírica (subjetiva) de la madurez de la Uvilla en base a atributos físicos

Efecto

Desperdicio de frutos de la uvilla (*Physalis peruviana*) contribuyen a una actividad agrícola poco rentable.

1.2.3 Prognosis

La presente investigación pretende estudiar el proceso de maduración de la uvilla, mediante la cuantificación de azúcares, almidón e invertasa a fin de establecer una correlación con los parámetros tradicionalmente utilizados por los agricultores para la cosecha, los cuales se basan principalmente en la coloración del capuchón. En base a los datos obtenidos se espera establecer el tiempo de cosecha apropiado para que la uvilla tenga los atributos más adecuados para la elaboración de productos derivados como mermeladas, helados, vino, los cuales representarían una fuente económica de ingreso a la Asociación Artesanal “Tierra Productiva”, incentivando así una mejor producción y comercialización de uvilla con la ayuda de estrategias que apoyen el mejoramiento de la producción.

1.2.4 Formulación del problema

¿La evaluación de los procesos de maduración de la uvilla mediante la cuantificación de azúcares, almidón e invertasa ayudará a correlacionar mejor los parámetros físicos (color del capuchón) que se manejan para cosechar la fruta de modo que la misma tenga el grado de maduración adecuado en base al tiempo de cosecha?

1.2.5 Preguntas directrices

- ¿Si no se establece un rango adecuado para el tiempo de cosecha de la uvilla que sucederá con este producto una vez cosechado?
- ¿Cuál es la variación físico-química que experimenta la uvilla durante el proceso de maduración?
- ¿Qué beneficios obtendrá el agricultor y productores de los derivados de uvilla con el estudio del proceso de maduración?

1.2.6 Delimitación del problema

Delimitación del contenido

Área: Investigación

Sub-área: Postcosecha de la uvilla

Sector: Fisiología vegetal

Sub-sector: Conservación del fruto

Delimitación espacial

La investigación se llevará a cabo con uvillas del cantón Quero de la Asociación Tierra Productiva y en los laboratorios de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.

Delimitación temporal

La investigación se realizará en el tiempo comprendido entre el mes de Julio del 2013 al mes de Mayo del 2014

1.3 Justificación

La Maduración de la fruta es un fenómeno complejo, con varios cambios bioquímicos y fisiológicos que tienen lugar en un corto período de tiempo, estos cambios afectan el sabor, color y textura de las frutas, atributos que contribuyen a hacer de estos órganos de plantas aptos para el consumo.

El aumento de la actividad metabólica de la fruta está relacionado con cambios en la expresión génica de varias enzimas importantes, que están por lo general bajo el control de las hormonas vegetales.

La cosecha de la fruta en un punto adecuado de madurez es fundamental para la preservación y comercialización en buen estado, debido a que el grado de madurez condiciona el almacenamiento y la calidad final, por lo cual se pretende determinar el grado de maduración en la uvilla en base a estos factores físico-químicos como la cuantificación de azúcares, almidón e invertasa y encontrar una correlación con los parámetros tradicionales manejados por los agricultores.

Mediante el establecimiento del grado de maduración correcto de la uvilla se pretende incrementar el tiempo de vida útil postcosecha lo cual posibilitaría la exportación de este producto a otros países expandiendo los beneficios de este fruto. A la vez se espera incentivar en el pequeño agricultor y empresarios una mejor capacidad de apreciación del grado madurez lo que facilitaría un manejo cosecha y postcosecha satisfactorio junto con la posibilidad de mejorar el rendimiento en la elaboración de diferentes productos.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

- ❖ Evaluar el proceso de maduración de la Uvilla (*Physalis peruviana*) mediante la cuantificación de azúcares, almidón e invertasa para determinar el tiempo adecuado de cosecha.

1.4.2 Objetivos específicos

- ❖ Determinar los niveles de azúcares, almidón e invertasa en tres fases del proceso de maduración de la uvilla.
- ❖ Correlacionar las variaciones en el contenido de azúcares, almidón e invertasa que experimenta la uvilla durante el proceso de maduración con los parámetros físicos tradicionalmente utilizados para definir el tiempo de cosecha (color del capuchón y del fruto).
- ❖ Comparar el efecto del tutoreo en el desarrollo del fruto y en el tiempo de maduración de la Uvilla.

CAPÍTULO II

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes Investigativos

Pilamala (2010), de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato señala que la uvilla ecuatoriana está siendo introducida paulatinamente en el mercado internacional, principalmente por su sabor y características medicinales y nutritivas que la hacen muy atractiva para su mercadeo y comercialización. Además por su alto contenido en pectina, la uvilla es especialmente apropiada para mermeladas, salsas y gelatinas. Su gusto ácido en salsas combina bien con carnes, mariscos, vegetales y otros frutos y, secadas al sol se consumen como pasas.

Altamirano (2010), del Colegio de Agricultura, Alimentos y Nutrición de la Universidad San Francisco de Quito menciona en sus estudios que la planta de uvilla es un arbusto muy denso, por lo cual plantaciones comerciales se deben sostener mediante tutores y amarres debido a que cuando están en producción alcanzan excesivo peso, ocasionando volcamientos y ruptura de ramas; este problema se agrava en zonas de vientos fuertes o en terrenos con elevada pendiente; el tutoreo mejora también la disposición de las ramas y tallos factor que facilita las labores agrícolas como podas, deshierbas, controles fitosanitarios, riego y cosechas.

Zapata et al.,(2002) de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria señalan que existen varios sistemas de tutorado y amarre para el cultivo, que dependen de la región y del material genético que se emplea en la siembra.

El sistema más utilizado permite la formación de la planta en “V”, que facilita la disponibilidad de la luz y favorece la aireación del cultivo, lo cual

permite reducir el ambiente favorable para el desarrollo de enfermedades; igualmente facilita algunas labores de cosecha, podas y controles fitosanitarios. El tutorado se debe instalar inmediatamente después del trasplante para mantener la arquitectura esperada; el objetivo del tutorado es facilitar la entrada de la luz y favorecer la aireación del cultivo, esto mejora la calidad de la fruta.

Álvarez et al. (2012), del Área agropecuaria y de recursos naturales renovables de la Universidad de Loja resalta que la uvilla es una fruta que debe cosecharse madura desde la planta, porque no puede madurarse después de la cosecha. Por lo tanto, esta actividad se debe realizar en forma manual, cortando los pedúnculos con tijeras o arrancándolos con prolijidad de modo que no se maltarte el fruto. El estado fisiológico ideal es cuando el capuchón presenta una coloración amarilla, muy atractiva a la vista y provocativa al paladar. Uvillas con capuchones de color café y con manchas por la excesiva humedad no se deben cosechar. La cosecha es escalonada, es decir todas las semanas hay frutos para recolectar. Debe evitarse cosechar cuando llueve o los frutos estén mojados o con mucho rocío, éstos deben estar completamente secos (sin humedad). Se depositan en cajas de cartón, bandejas plásticas con capacidad de no más de cinco kilos, demasiado peso puede reventar la fruta o arrugar los capuchones, que es el envase natural y netamente orgánico con que debería presentarse la fruta al consumidor.

FONTAGRO (2008) menciona que la uvilla se recolecta cuando el color del cáliz comienza a presentar coloración amarilla y el fruto es amarillo naranja. La cosecha se lleva a cabo directamente con la mano, pero últimamente se usa tijeras. Las uvillas de exportación se cosechan cuando el color del capuchón comienza a amarillarse pero para venta local el color del cáliz puede ser más amarillo. En este estudio se evaluaron el color, firmeza, pH, grados brix, acidez titulable (como ácido cítrico) e intensidad respiratoria.

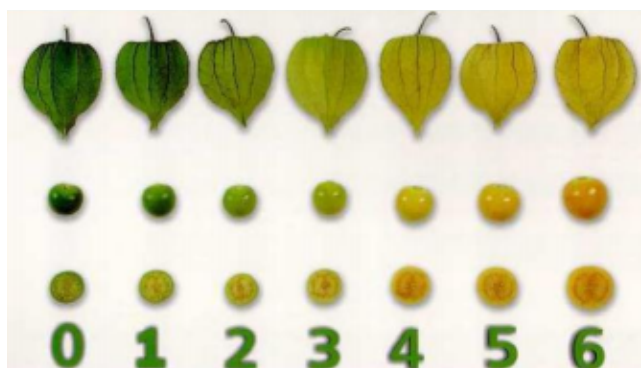
Agronet(Colombia) sugiere que se deben utilizar al menos dos métodos para determinar el grado de madurez. Los indicadores de madurez son parámetros que se emplean para determinar el grado de desarrollo de las frutas y por lo tanto se utilizan como criterios para determinar el momento preciso para iniciar la recolección.

Figura 2. Métodos para la determinación de los índices de madurez

TEMPORALES	No. de días después de la floración No. de meses después de la siembra Unidades de calor (grados/día)
FISICOS	Color externo Facilidad de Absición Macioez Peso específico Peso Fresco Peso seco Tamaño
QUIMICOS	pH Acidez ° Brix Índice de madurez
FISIOLOGICO	Tasa de respiración Rendimiento de pulpa, jugo o almendra Producción de etileno
ORGANO-LEPTICOS	Sabor Aroma Color

TOAPANTA (2012) señala que la cosecha se inicia cuando los frutos toman una coloración anaranjada y el capuchón que encierra la fruta se torna de color amarillo. Según Brisco (2006), la uvilla se clasifica según su maduración en grados que van del “0” al “6” El tiempo de vida útil de una uvilla cosechada en grado 5 de madurez, es más largo que el de una uvilla con grado 6.

Figura 3. Etapas de maduración de la uvilla



Fuente: TOAPANTA (2012)

González M. afirma que el índice de madurez, Es una relación entre acidez (gr/mL) y porcentaje de sólidos solubles disueltos dicho de otra forma, acidez/Grados Brix. Los °brix es un parámetro muy usado para evaluar la madurez de los frutos, pues a medida que el fruto madura, la acidez baja, entre tanto que el porcentaje de azúcares (sólidos solubles) aumenta; Y a su vez el Color es un manifiesto de cambios que experimenta las frutas durante la maduración y es este el criterio más usado por los consumidores para decidir si la fruta está o no madura.

2.2 Fundamento filosófico

La presente investigación pretende complementar el conocimiento tradicional sobre el tiempo de cosecha de la uvilla con el análisis de propiedades físico-químicas en busca de determinar el tiempo adecuado de maduración para la cosecha, a fin de mejorar la preservación de la uvilla y evitar desperdicios en sus frutos.

Esta investigación se fundamenta, en el paradigma positivista el cual afirma que el único conocimiento auténtico es el conocimiento científico basado en métodos científicos.

De acuerdo con Dobles et al. (1998), el paradigma positivista postula que el sujeto descubre el conocimiento porque tiene acceso a la realidad mediante los sentidos, la razón y los instrumentos utilizados, también resaltan que el conocimiento válido es el científico, y existe una realidad accesible al sujeto mediante la experiencia.

El positivismo supone la existencia independiente de la realidad con respecto al ser humano que la conoce (Barrantes, 2000).

2.3 Fundamento legal

NORMA INEN 2485:2009

Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria	FRUTAS FRESCAS. UVILLA. REQUISITOS.	NTE INEN 2 485:2009 2009-03
---	---	-----------------------------------

OBJETO

1.1 Esta norma establece los requisitos que debe cumplir la uvilla destinada para consumo en estado fresco acondicionada y/o envasada para su comercialización dentro del territorio ecuatoriano.

ALCANCE

2.1 Esta norma se aplica a la uvilla *Physalis peruviana* (L.), de la familia *Solanaceae*.

DEFINICIONES

3.1 Para los efectos de esta norma, se adoptan las definiciones contempladas en la NTE INEN 1751y las que a continuación se detallan:

3.1.1 *Uvilla Physalis peruviana* (L.), de la familia *Solanaceae*. La fruta es redonda - ovoide, del tamaño de una uva grande, con piel lisa, cerácea, brillante y de color amarillo – dorado – naranja; o verde según la variedad. Su carne 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 ácido.

Figura 4. Estado maduro de la uvilla (*Physalis peruviana*)



3.1.2 Capuchón o cáliz acrescente. Es el conjunto de hojas o sépalos unidas en sus bordes que encierran al fruto y lo protegen de agentes externos

3.1.3 Fruta fuera de norma. Es aquella fruta que no cumple con los requisitos establecidos en esta norma.

CLASIFICACIÓN

4.1 Independiente del calibre, la clasificación de la uvilla admite tres grados que se definen a continuación:

4.1.1 Grado extra. Las uvillas de este grado deben cumplir los requisitos generales definidos en el numeral 6.1. Su forma y color deben ser característicos de la variedad. No deben tener defectos que demeriten la calidad del fruto. El capuchón debe estar libre de hongos, se acepta manchas superficiales ocasionadas por la humedad y/o hongos hasta un 5 % del área total.

4.1.2 Grado I. Las uvillas de este grado deben cumplir con los requisitos generales definidos en 6.1 y poseer el color y las formas características, se aceptan los siguientes defectos, siempre que éstos no afecten a la pulpa.

- defectos leves de la forma;
- defectos leves en la coloración;
- defectos leves de la piel.

El capuchón debe estar libre de hongos, se acepta manchas superficiales ocasionadas por la humedad y/o hongos hasta un 10 % del área total.

4.1.3 Grado II. Este grado comprende las uvillas que no pueden clasificarse en los grados anteriores, pero satisfacen los requisitos mínimos especificados en 6.1. Podrán permitirse, sin embargo, los siguientes defectos, siempre y cuando las uvillas conserven sus características esenciales en lo que respecta a su calidad, estado de conservación, aspecto general y presentación:

- defectos de la forma;
- defectos de la coloración;
- defectos de la piel;
- pequeñas grietas cicatrizadas que no representen más del 5% de la superficie total del fruto.

En ningún caso los defectos deberán afectar a la pulpa del fruto. El capuchón debe estar libre de hongos, puede presentar manchas superficiales ocasionadas por la humedad y/o hongos hasta un 20 % del área total.

4.2 Calibre. El calibre se determina por el diámetro en mm de la sección ecuatorial de la fruta y la masa expresada en g, la correlación entre calibre, diámetro y masa es la siguiente:

Tabla 1. Calibres de la uvilla

Calibre	Diámetro ecuatorial, mm (ver 8.1.2)	Masa promedio, g (ver 8.1.3)	
Grande	>22	>3,0	>2,8
Mediana	18 – 22	3,0 – 2,0	2,8 – 1,8
Pequeña	< 18	< 2,0	< 1,8

4.3 Tolerancias. Se admiten tolerancias de calidad y calibre en cada unidad de empaque para los productos que no cumplan los requisitos del grado indicado.

4.3.1 Tolerancias de calidad

4.3.1.1 Grado extra. Se admite hasta el 5 % en número o en masa de las uvillas con capuchón o sin él, que no correspondan a los requisitos de este grado.

4.3.1.2 Grado I. Se admite hasta el 10 % en número o en masa de las uvillas con capuchón o sin él, que no correspondan a los requisitos de este grado.

4.3.1.3 Grado II. El 10%, en número o en masa de las uvillas con capuchón o sin él, que no satisfagan los requisitos de este grado, ni los requisitos mínimos, con excepción de los productos afectados por magulladuras graves, descomposición o cualquier otro tipo de deterioro que no sean aptos para el consumo. En este grado podrá aceptarse como máximo un 20%, en número o en masa, de los productos con grietas pequeñas que no abarque una superficie superior al 5%.

4.3.2 Tolerancias de calibre. Para todos los grados se acepta hasta el 10% en número o en masa de frutos, que corresponda al calibre inmediatamente inferior o superior, al señalado en el empaque.

DISPOSICIONES GENERALES

5.1 Los frutos destinados a la comercialización, deben cumplir con los grados y calibres considerados anteriormente, deben estar bien formados, pulpa carnosa y de color típico. El producto no debe tener heridas, pudriciones y daños causados por insectos.

5.2 El proveedor debe garantizar que la muestra inspeccionada cumpla con el grado y calibre declarado en el rótulo o etiqueta del envase o embalaje.

REQUISITOS

6.1 Requisitos generales

6.1.1 Todos los grados de uvilla deben estar sujetos a los requisitos y tolerancias permitidas en esta norma. Además, deben tener las siguientes características físicas:

- Enteras, con o sin capuchón;
- Sanas, y exentas de podredumbre o deterioro que hagan que no sean aptas para el consumo;
- Limpias y exentas de cualquier materia extraña visible;
- Exentas de plagas que afecten al aspecto general del producto;
- Exentas de humedad externa anormal, salvo la condensación consiguiente a su remoción de una cámara frigorífica;
- Exentas de cualquier olor y/o sabor extraños;
- Ser de consistencia firme;
- Tener un aspecto fresco;
- Tener una piel suave y brillante.
- Si el capuchón está presente, el pedúnculo no debe superar los 25 mm de longitud.

6.1.2 La 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.

6.1.2.1 La escala de color de la uvilla para determinar su madurez es la que se indica a continuación:

TABLA 2. Requisitos físico químicos de las uvillas de acuerdo con su estado de madurez

	Madurez de consumo		Método de ensayo
	Min	Max	
Acidez titulable % (ácido cítrico)	-	2,50	NTE INEN 381
Sólidos solubles totales, °Brix	10,0	.	NTE INEN 380

6.1.3 Los residuos de plaguicidas no deben exceder los límites máximos establecidos en el Codex Alimentarius

6.2 Requisitos complementarios

6.2.1 Las uvillas deben recolectarse con pedúnculo, cuando alcancen su madurez de consumo.

6.2.2 El desarrollo y condición de las uvillas deben ser tales que les permitan:

- a) Soportar el transporte y la manipulación, y
- b) Llegar en estado satisfactorio al lugar de destino.

6.2.3 Para su comercialización se debe tener en cuenta que el fruto no es climatérico.

6.2.4 El producto puede comercializarse con o sin capuchón

6.2.5 Condiciones de almacenamiento

6.2.5.1 Para evitar daños al fruto no debe exponerse al sol.

6.2.5.2 Las áreas de transporte y almacenamiento deben mantenerse frescas y ventiladas

6.2.6 La comercialización de este producto debe sujetarse con lo dispuesto en la Ley 2007-76 del Sistema Ecuatoriano de la Calidad.

INSPECCIÓN

7.1 Muestreo. El muestreo de las uvillas se realizará de acuerdo con la NTE INEN 1 750.

7.2 Aceptación y rechazo. Si la muestra inspeccionada no cumple con uno o más de los requisitos establecidos en esta norma, se considera rechazada. En caso de discrepancia, se repetirán los ensayos sobre la muestra reservada para tal fin. Cualquier resultado no satisfactorio, en este segundo caso, será motivo para considerar el lote como fuera de norma, y se debe rechazar el lote quedando su comercialización sujeta al acuerdo de las partes interesadas.

MÉTODO DE ENSAYO

8.1 Determinación del calibre

8.1.1 *Diámetro ecuatorial.* Medir el diámetro de la sección ecuatorial del fruto con un calibrador y el resultado expresar en milímetros (mm).

8.1.2 *Masa.* La masa de las uvillas determinar mediante el uso de una balanza con sensibilidad de gramos.

EMBALAJE

9.1 El contenido de cada unidad de empaque debe ser homogéneo y estar compuesto únicamente por frutos de la misma variedad, grado, color y calibre.

La parte visible del contenido del empaque debe ser representativa del conjunto.

9.2 Los empaques deben estar limpios y compuestos por materiales que no causen alteraciones al producto, así por ejemplo en cajas de madera, cartón corrugado o de otro material adecuado que reúna las condiciones de higiene, limpieza, ventilación y resistencia a la humedad, manipulación y transporte, de modo que garantice una adecuada conservación del producto.

9.3 Las características del embalaje de madera se encuentran establecidas en la NTE INEN 1 735.

ROTULADO

10.1 Los envases deben llevar etiquetas o impresiones con caracteres legibles e indelebles redactados en español (sin perjuicio de que además se expresen en otro idioma) y colocadas en tal forma que no desaparezcan bajo condiciones normales de almacenamiento y transporte, debiendo contener la información mínima siguiente:

- a) Identificación del productor, empacador y/o distribuidor (marca comercial, nombre, dirección o código).
- b) Nombre del producto: UVILLA.
- c) País de origen y región productora.
- d) Características comerciales: grado, calibre, contenido neto expresado en unidades del Sistema Internacional.
- e) Fecha de empaque.
- f) Impresión con la simbología que indique el manejo adecuado del producto, ver NTE INEN 2 058.

10.2 Si se usan impresiones litográficas, éstas no deben estar en contacto con el producto.

APÉNDICE Z

Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 380	Conservas vegetales. Determinación de sólidos solubles. Método refractométrico.
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 381	Conservas vegetales. Determinación de la acidez titulable. Método potenciométrico de referencia.
Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1 735	Embalajes de madera para frutas y hortalizas. Requisitos
Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1 750	Hortalizas y frutas frescas. Muestreo.
Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1 751	Frutas frescas. Definiciones y clasificación.
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2 058	Embalajes. Símbolos gráficos para la manipulación de mercancías.
CODEX ALIMENTARIO CAC/MRL 1-2001	Lista de Límites Máximos para Residuos de Plaguicidas
2007-76 Ley del Sistema de la Calidad Registro Oficial No. 26 de 2007-02-22	

“Marco Legal para Agricultura Orgánica. El Reglamento de la Normativa de la Producción Orgánica en el Ecuador”

EL MINISTRO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA

Considerando:

Que, el Ecuador es un país agrícola que sustenta gran parte de su economía en las actividades agropecuarias de la cual depende alrededor del 40% de su población.

CAPÍTULO I

OBJETIVOS Y FINES

Art. 1.- Objetivos.- El presente reglamento tiene los siguientes objetivos:

- a) Establecer las normas y procedimientos para la producción, elaboración, empaque, etiquetado, almacenamiento, transporte, comercialización, la exportación e importación de los productos orgánicos.

- b) Asegurar todas las fases, desde la producción hasta llegar al consumidor final.

Art. 21.- De la cosecha y postcosecha.- Estas operaciones deben realizarse bajo condiciones adecuadas que permitan preservar la integridad orgánica y la calidad de los productos.

CONSTITUCIÓN DE LA REPUBLICA DEL ECUADOR 2008

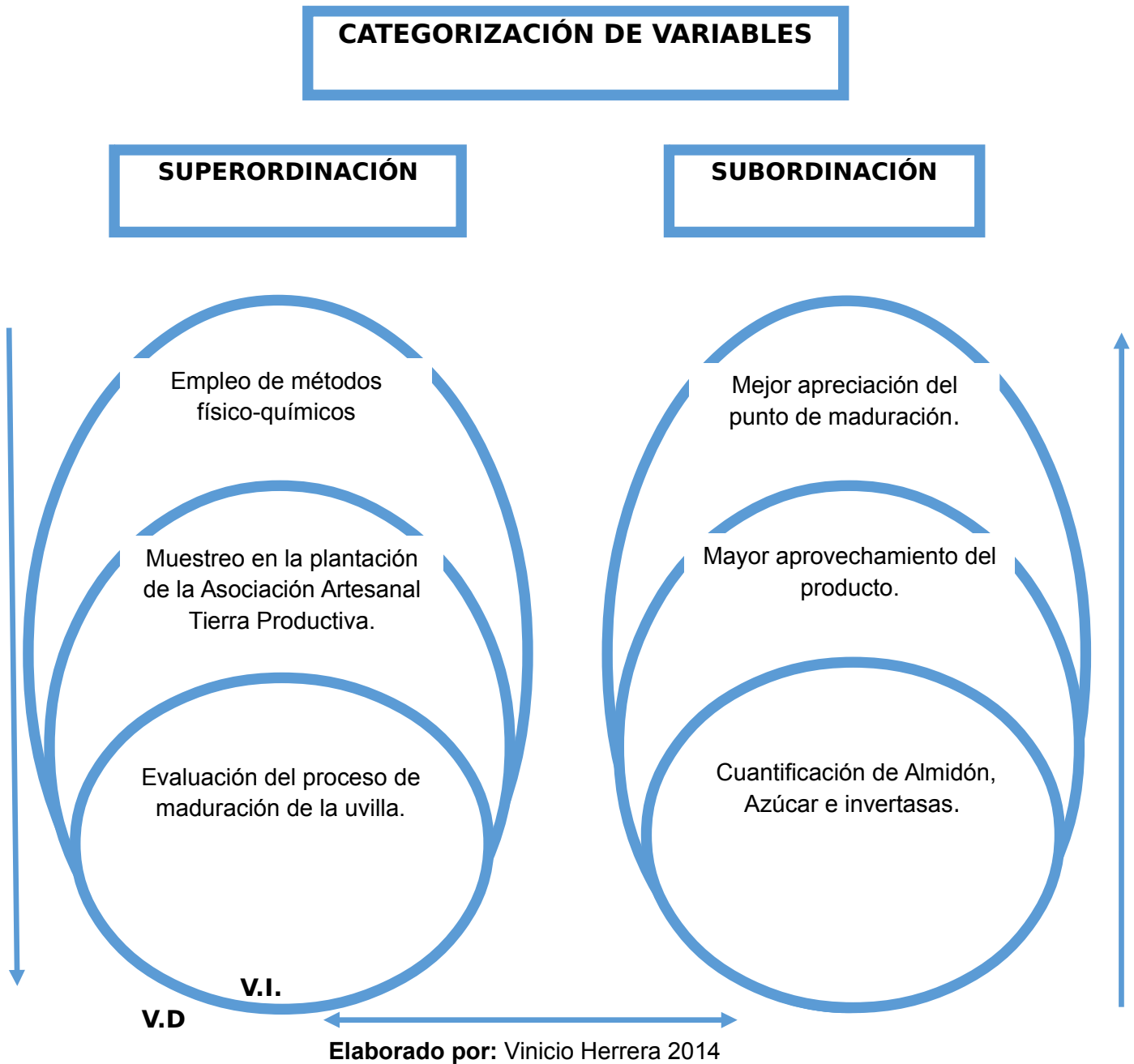
Capítulo segundo biodiversidad y recursos naturales

Sección quinta suelo

Art. 410.- El Estado brindará a los agricultores y a las comunidades rurales apoyo para la conservación y restauración de los suelos, así como para el desarrollo de prácticas agrícolas que los protejan y promuevan la soberanía alimentaria.

2.4 Categorías fundamentales

2.4.1 Gráficos de inclusión interrelacionados



2.5 Hipótesis

2.5.1 Hipótesis nula (H_0):

Los estados de maduración de la uvilla no se pueden evaluar mediante la cuantificación del contenido de almidón, azúcares e invertasa.

2.5.2 Hipótesis alternativa (H_1)

Los estados de maduración de la uvilla se pueden evaluar mediante la cuantificación del contenido de almidón, azúcares e invertasa.

2.6 Señalamiento de variables de la hipótesis

2.6.1 Variable independiente:

Evaluación del proceso de maduración de la uvilla.

2.6.2 Variable dependiente:

Contenido de azúcares, almidón e invertasa.

CAPÍTULO III

3 Metodología de la investigación

3.1 Enfoque

La presente investigación se enfocó en la determinación cuantitativa del punto adecuado de maduración de la uvilla (*Physalis peruviana*) mediante la medición del contenido de azúcares, almidón e invertasa, con el propósito de establecer la posible correlación con propiedades cualitativas tales como el color del capuchón y de la fruta en sí, manejadas a nivel de productor.

3.2 Modalidad básica de la investigación

El presente estudio se sustentó en diferentes aspectos como son, la investigación de campo, bibliográfica y experimental.

3.2.1 De Campo

Se utilizaron varias muestras de uvillas (*Physalis peruviana*) con tres estados de madurez (verde, pintona, madura) para hacer un seguimiento de su maduración basado en análisis físico – químicos y cualitativos.

3.2.2 Bibliográfica

El objetivo fue detectar, amplificar e indagar varios enfoques, sobre conceptualizaciones y teorías de varios autores con datos investigativos de la uvilla (*Physalis peruviana*) con el propósito de sustentar la investigación por medio de documentos, libros, y otras publicaciones.

3.2.3 Experimental

La investigación determinó el punto adecuado de maduración basado en parámetros medibles como la disminución del contenido de almidón por su transformación en azúcar y la actividad de la invertasa presente en la fase final de maduración del fruto.

3.3 Nivel o tipo de investigación

3.3.1 Exploratorio

En el presente estudio se investigó la variación de la cantidad de almidón y azúcares existentes en la uvilla (*Physalis peruviana*) en relación al grado de madurez del fruto, compuestos generados a través de la actividad de enzimas que intervienen en esta transformación.

3.3.2 Descriptivo

Se estableció el punto óptimo de maduración de la uvilla (*Physalis peruviana*) mediante la comparación de diferentes propiedades físicas y químicas cuantificadas para tres estados de madurez.

3.4 Población y muestra

3.4.1 Población

Para esta investigación se determinó como población o universo a las plantas de uvilla cultivadas por uno de los socios de la Asociación Artesanal Tierra Productiva del cantón Quero.

3.4.2 Muestra

Se tomó 2 libras de uvilla por cada estado de maduración para analizar los parámetros físico-químicos.

3.5 Operacionalización de variables

3.5.1 Operacionalización de la variable independiente: Parámetros óptimos de maduración.

ABSTRACTO		CONCRETO		
Conceptualización	Dimensiones	Indicadores	Ítems Básicos	Técnicas o Instrumentos
<p>La maduración es el desarrollo de una serie de características físico-químicas que permiten definir color, olor, textura, y tamaño del fruto</p> <p>En general disminuye el color verde debido a una reducción del contenido de clorofila y al incremento en la síntesis de pigmentos de color amarillo, naranja y rojo (carotenoides y antocianinas) y las propiedades organolépticas cambian debido a la hidrólisis de los almidones que se transforman en azúcares</p>	Estados de Maduración	Características, físicas como color forma y tamaño °brix pH	¿Qué es la madurez? ¿Qué parámetros determinan el estado de madurez?	Tabla de color Medida directa de °Brix Determinación por espectrofotometría de contenido de almidón, glucosa.

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

3.5.2 Operacionalización de la variable dependiente: Cuantificación de almidón, azúcares e invertasa.

ABSTRACTO		CONCRETO		
Conceptualización	Categorías	Indicadores	Ítems Básicos	Técnicas e Instrumentos
<p>La cuantificación de almidón, azúcares y pH determinan el avance en el proceso de maduración del fruto de la uvilla desde su inicio cuando predomina el almidón en la fruta y su descenso debido a su transformación en azúcares así como la variación del pH.</p> <p>La invertasa, es una enzima que se encarga de transformar la sacarosa (azúcar común) en glucosa y fructosa.</p>	<p>Contenido de Almidón, azúcares y medición de pH</p>	<p>Concentración de Almidón y de azúcares °brix</p> <p>pH</p>	<p>¿Cuál es la cantidad de almidón y azúcares presentes en los estados de maduración de la uvilla? y cual el pH de la fruta?</p>	<p>Método para cuantificar almidón por espectrofotometría</p> <p>Etanol 80%</p> <p>Rotavapor</p> <p>Baño termostático</p> <p>Medida directa pH</p> <p>Medida directa °brix</p> <p>Método enzimático colorimétrico para glucosa (GLUCOSA MR)</p> <p>Determinación por espectrofotometría</p>
	<p>Contenido de Glucosa formada a partir de la sacarosa</p>	<p>Concentración de Glucosa °brix</p>	<p>¿Qué cantidad de Glucosa contiene la uvilla al final de su maduración?</p>	
	<p>Actividad de Invertasa</p>	<p>Actividad de Invertasa</p>	<p>¿La actividad de la invertasa depende del estado de madurez?</p>	

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

3.6 Recolección de información

La recolección de información para los parámetros de cosecha de la Uvilla (*Physalis peruviana*) se realizó tomando en cuenta tres estados de madurez (verde, pintona y madura) con muestras de uvilla producidas mediante dos técnicas diferentes de cultivo, realizadas en un lote de terreno del cantón Quero.

Fase experimental

3.6.1 Preparación de las muestras para análisis.

Para el desarrollo de la parte experimental se utilizaron muestras de 5,5ml y 6,83gr uvilla en tres estados de madurez: verde, pintona, madura, después de haber sido lavadas y secadas para su preparación.

Para las determinaciones de almidón y azúcares, la molienda se realizó en un mortero, y se preparó la muestra como se describe a continuación: De las muestras líquidas producidas con uvillas pintonas y maduras, se tomó 5,5ml y para las muestras de uvilla verde (muestra no líquida) se tomó 6,83gr. A cada muestra se añadió 8 ml de etanol al 80%, y luego de 1 hora de agitación se centrifugó durante 20 minutos. Este procedimiento se realizó con 5 alícuotas por cada muestra para obtener el volumen necesario para los análisis. Se colectó el sobrenadante de los 5 tubos, se evaporó el etanol en un Rotavapor a 78 °C, se recogió el concentrado para análisis de azúcares totales, azúcares reductores y glucosa una vez medido el volumen el cual se almacenó en refrigeración hasta realizar cada una de las réplicas del ensayo. El precipitado se utilizó para análisis de almidón luego de secarlo a 40 °C hasta obtener un polvo libre de humedad.

3.6.2 Cuantificación de almidón

En tubos de polipropileno de 15 ml se colocó 50 mg de muestra (polvo seco de uvilla obtenido a partir del precipitado de la extracción con etanol), se añadió bajo agitación 1ml de agua (H₂O) destilada y 1ml de hidróxido de potasio (KOH) 4M. Se incubó la suspensión por 2 horas (con agitación magnética). A continuación se añadió 2ml de buffer acetato 0,2 M de pH 4,5, 1ml de Ácido Clorhídrico (HCl) 2M y se reguló el pH hasta llegar a 6,0 con HCl 2M, 0,5M y 0,1M, para un fácil ajuste del pH. Seguidamente se agregó 20 µl de α-amilasa termoestable (termamyl 120 L; de Novo-Nordisk) y se incubó la mezcla a ebullición durante 30 minutos con agitación intermitente (cada 5 minutos).

Luego de la hidrólisis parcial del almidón se agregó 1 ml de buffer acetato 0,2M de pH 4,5 y se reguló el pH a 4,5, valor óptimo para la amiloglucosidasa. Finalmente, se agregó 20 µl de amiloglucosidasa (AMG 300L, de Novo-Nordisk) y se llevó a incubación a 50 °C por 2 horas, para producir la hidrólisis completa del almidón. Se centrifugó la solución obtenida para eliminar cualquier residuo sólido y evitar interferencias en las lecturas de absorbancia en el espectrofotómetro.

Para la cuantificación de la glucosa generada por la hidrólisis de almidón, se preparó una curva estándar de glucosa de la siguiente manera.

3.6.3 Preparación de la curva estándar de glucosa con DNS

Para la preparación de la curva estándar se tomó 0,2-0,4-0,6-0,8 y 1 ml de la solución madre de glucosa (1 mg/ml), y se completó el volumen de cada una hasta 1 ml con agua destilada, se agregó 1 ml de solución de ácido 3,5 dinitro salicílico (DNS) en cada tubo, se agitó y se llevó a ebullición durante 5 minutos, luego de los cuales se enfrió en un baño de agua fría, se agregó 8,6 ml del agua destilada, se agitó, y se procedió a leer las absorbancias de cada tubo en un espectrofotómetro, a una longitud de onda de 540 nm, frente

a un blanco preparado de idéntica manera con 1 ml de agua destilada. Los datos de absorbancias se reportan en la Tabla A3.

Para la cuantificación de la glucosa en las muestras de la hidrólisis de almidón, se tomó una alícuota de 0,2 ml de muestra centrifugada, se añadió 0,8 ml de agua destilada, se adicionó con agitación 1 ml de solución de DNS y se procedió de idéntica forma que con los estándares obteniendo las absorbancias de la Tabla A3

El contenido de glucosa se obtuvo a partir de la ecuación que relaciona la concentración de glucosa con la absorbancia a partir de la curva estándar que se muestra en el Gráfico A1.

Los valores obtenidos se multiplicaron por el factor de dilución (relación de mezcla de la solución con agua) y por el factor de transformación de glucosa a almidón (0,9) obtenido con la siguiente relación. Los resultados de este análisis se muestran en la Tabla A4.

$$PM \text{ GLUCOSA } (C_6H_{12}O_6) = 180 \frac{gr}{mol}$$

$$PM \text{ AGUA } (H_2O) = 18 \frac{gr}{mol}$$

$$\text{Peso de cada residuo de glucosa en el almidón} = (180 - 18) \text{ gr/mol}$$

$$\text{Peso del residuo de glucosa en el almidón} = 162 \text{ gr/mol}$$

$$\text{Relación glucosa/almidón} = \frac{162 \text{ gr/mol}}{180 \text{ gr/mol}} = 0,9$$

Los resultados finales se determinaron por medio de la siguiente fórmula:

$$0,082 \text{ abs} = 0,759 \text{ mg/ml} \times 8,2 \text{ ml aforados} \times 0,9 \text{ factor transformación} = 5,60 \text{ mg}$$

$$\text{de Almidón en uvilla verde} = \frac{\frac{C \times VA \times FT \times M}{MI}}{\frac{MT}{MS}}$$

Donde:

C= Concentración de glucosa obtenida a partir de la absorbancia de la muestra

VA=Volumen al cual se aforó la muestra

FT= Factor de transformación de glucosa a almidón

M=Masa de la alícuota recolectada de la muestra

MI=Masa inicial necesaria en el análisis

MT=Masa total de muestra

MS=Masa seca en 1 gr de uvilla

$$\text{de Almidón en uvilla verde} = \frac{\frac{0,759 \text{ mg/ml} \times 8,2 \text{ ml} \times 0,9 \times 1,32 \text{ gr}}{0,05 \text{ gr}}}{\frac{6,83 \text{ gr de uvilla}}{0,31 \text{ gr uvilla seca}}}$$

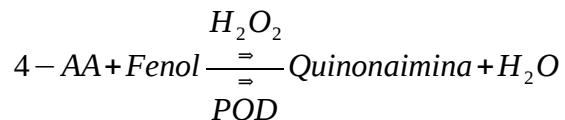
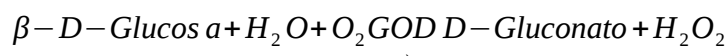
$$\text{de Almidón en uvilla verde} = 69,80 \text{ mg de almidón de uvilla / uvilla seca}$$

$$\text{de Almidón en uvilla verde} = 0,06980 \text{ gr almidón uvilla seca} \times 100$$

$$\text{de Almidón en uvilla verde} = 6,98 \text{ de almidón de uvilla verde}$$

3.6.4 Cuantificación de glucosa

Para la valoración cuantitativa de glucosa se utilizó el método enzimático colorimétrico de Trinder (1969) con el reactivo GLUCOSA MR (Linear Chemicals S.L) en el cual la glucosa es oxidada a D-gluconato por la glucosa oxidasa (GOD), con formación de peróxido de hidrógeno. En presencia de peroxidasa (POD), el fenol y la 4-aminoantipirina (4-AA) se condensan por acción del peróxido de hidrógeno, para formar una quinonaimina roja cuya concentración es proporcional a la concentración de glucosa en la muestra.



Composición de los reactivos

R1: Monoreactivo: Tampón fosfato 100 mmol/L pH 7,5, glucosa oxidasa > 10 KU/L, peroxidasa > 2 KU/L, 4-aminoantipirina 0,5 mmol/L, fenol 5 mmol/L

CAL: Patrón de Glucosa. Glucosa 100 mg/dL (5,55 mmol/L). Patrón primario de matriz orgánica.

Para el análisis de glucosa en las muestras de uvilla, en los 3 estados de madurez, se tomó 200 µL del sobrenadante libre de etanol (evaporado con la ayuda del Rotavapor a 78 °C) y se añadió 2 mL de R1: Monoreactivo.

La cantidad total de glucosa presente en la muestra original se determinó mediante la siguiente expresión

$$\text{de Glucosa en uvilla verde} = \frac{C \times VR}{\frac{MI}{MS}}$$

Donde:

C= Concentración de glucosa obtenida de la absorbancia de la muestra

VR=Volumen obtenido del Rotavapor

MI=Masa inicial requerida para el análisis

MS=Masa seca en 1 gr de uvilla

$$\text{de Glucosa en uvilla verde} = \frac{1,773 \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \times 4,7 \text{ ml recogidos de Rotavapor}}{\frac{6,83 \text{ gr de uvilla muestra inicial}}{0,31 \text{ gr de uvilla seca}}}$$

$$\text{de Glucosa en uvilla verde} = 3,935 \text{ mg glucosa / gr uvilla seca}$$

$$\text{de Glucosa en uvilla verde} = 0,0039 \text{ gr glucosa uvilla seca} \times 100$$

$$\text{de Glucosa en uvilla verde} = 0,39 \text{ gr de glucosa } 100 \text{ gr uvilla seca}$$

3.6.5 Curva de calibración para glucosa con reactivo MR

Para preparar la curva estándar de glucosa con el reactivo MR, se equilibró los reactivos y muestras a temperatura ambiente, se realizó una dilución 1/20 de la concentración de la solución madre de glucosa y a partir de ella se tomó 0, 100, 125, 150, 175 y 200 μL y se completó el volumen de cada una hasta 200 μL con agua destilada y se agregó 2 ml de R1: Monoreactivo. Se mezcló cada tubo y se dejó reposar 15 minutos a temperatura ambiente ó 5 minutos a 37 °C y, se leyeron las absorbancias (A) de las muestras y de cada patrón a 500 nm en el espectrofotómetro frente al blanco de reactivo, preparado con 200 μL de agua destilada y 2 ml de R1: Monoreactivo.

El color es estable hasta 2 horas después de la adición del reactivo, si está protegido de la luz.

Los datos de absorbancias se reportan en la Tabla A7 y la curva de calibración en la Tabla A8.

La pendiente de la recta será el factor que relaciona a la absorbancia obtenida a 500 nm con la concentración de glucosa en la muestra.

3.6.6 Cuantificación de sacarosa

La cuantificación de sacarosa se realizó después de la hidrólisis de la muestra del sobrenadante del extracto etanólico para cada uno de sus tres estados de madurez, debido a que la sacarosa es un disacárido no reductor, pero tras su hidrólisis en medio ácido se liberan glucosa y fructosa que son azúcares reductores.

En la determinación de sacarosa se empleó 5 ml del extracto; se agregó 0,3 ml de ácido clorhídrico (HCl) concentrado, se calentó la solución hasta llegar a 70°C y se mantuvo a esta temperatura durante 15 minutos, contados desde el momento en que las soluciones alcanzaron la temperatura.

Se neutralizó la solución con hidróxido de sodio (NaOH) 1M, y se llevó el volumen a 20 ml con tampón fosfato de sodio de pH 7,4 y se procedió a cuantificar la sacarosa por medio de la glucosa liberada en la hidrólisis.

El contenido de sacarosa puede ser estimado mediante la cuantificación enzimática de la glucosa generada en la hidrólisis utilizando el método enzimático colorimétrico con monoreactivo para GLUCOSA MR. menos la cantidad de glucosa inicial.

La expresión final para el cálculo de la cantidad de sacarosa es la siguiente:

$$0,102 \text{ abs} = 1,582 \text{ mg/ml}$$

$$\text{de Sacarosa en uvilla verde} = \frac{C \times VA \times VR}{\frac{MI}{MS}}$$

Donde:

C= Concentración de glucosa obtenida de la absorbancia de la muestra

VA=Volumen al cual se aforó la muestra

VR=Volumen obtenido del Rotavapor

MI=Masa inicial requerida para el análisis

MS=Masa seca en 1 gr de uvilla

$$\text{de Sacarosa en uvilla verde} = \frac{1,582 \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \times 5,782 \text{ ml} \times 4,7 \text{ ml de Rotavapor}}{\frac{6,83 \text{ gr de uvilla muestra inicial}}{0,31 \text{ gr de uvilla seca}}}$$

$$\text{de Sacarosa en uvilla verde} = 20,16 \text{ mg glucosa / gr uvilla seca}$$

$$\text{de Sacarosa en uvilla verde} = 0,0202 \text{ gr glucosa uvilla seca} \times 100$$

$$\text{de Sacarosa en uvilla verde} = 2,02 \text{ sac. y glu / 100 gr uvilla seca}$$

$2,02 \text{ sac. y glu} / 100 \text{ gr uvilla seca} - 0,39 \text{ glu} = 3,25 \text{ gr sacarosa} / 100 \text{ gr uvilla seca}$

3.6.7 Cuantificación de azúcares reductores

En la cuantificación de azúcares reductores se utilizó ácido 3,5 dinitro salicílico (DNS) (Miller, 1959), reactivo que tiene la capacidad de oxidar a los azúcares reductores dando resultados colorimétricos que se pueden medir a una longitud de onda de 540nm mediante la preparación de una curva de calibración de glucosa (Tabla A3). Para esta determinación se mezcló 1 ml de muestra concentrada de uvilla obtenida del sobrenadante del extracto etanólico en cada uno de sus tres estados de madurez con 1 ml de solución de DNS y se procedió como se describe en 3.6.3.

Para la expresión final de resultados de azúcares reductores se procedió de la siguiente manera:

$$0,428 \text{ abs} = 4,304 \text{ mg/ml} \times 4,7 \text{ ml del Rotavapor}$$

$$\text{de Azúcares Reductores en uvilla verde} = \frac{C \times VR}{\frac{MI}{MS}}$$

Donde:

C= Concentración de azúcares reductores obtenidos de la absorbancia de muestra

VA=Volumen al cual se aforó la muestra

VR=Volumen obtenido del Rotavapor

MI=Masa inicial requerida para el análisis

MS=Masa seca en 1 gr de uvilla

$$\text{de Azúcares Reductores} = \frac{4,304 \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \times 4,7 \text{ ml recogidos de Rotavapor}}{\frac{6,83 \text{ gr de uvilla muestra inicial}}{0,31 \text{ gr de uvilla seca}}}$$

$$\text{de Azúcares Reductores} = 9,459 \text{ mg de azúcares reductores / gr uvilla seca}$$

$$\text{de Azúcares Reductores} = 0,0094 \text{ mg de azúcares reductores / gr uvilla seca} \times 100$$

$$\text{de Azúcares Reductores} = 0,0094 \text{ mg de azúcares reductores / gr uvilla seca} \times 100$$

de Azúcaes Reductores = 0,94 gr de uvilla seca / 100 gr de uvilla seca

3.6.8 Determinación de la actividad enzimática de la invertasa

Para este ensayo se utilizó polvo seco de uvilla obtenido mediante tres extracciones con acetona al 80% y dos extracciones con acetona al 100%, utilizando 4 gr de uvilla previamente molida en un mortero con hielo seco para obtener un polvo fino, para sus tres estados de madurez, a esto se añadió 10 ml de acetona a -10 °C.

Cada extracción se centrifugó durante 15 min a 4 °C. Las fases de disolvente se descartaron, y el sedimento final se secó a temperatura ambiente hasta obtener el polvo seco que contenía la enzima.

El polvo seco, fue almacenado a temperatura de congelación hasta su utilización como fuente de enzima en la determinación de la actividad enzimática.

Extracción de la enzima a partir del precipitado obtenida con acetona

Se incubó 150 mg de polvo seco de uvilla en 3 ml de 10/20 mM de buffer citrato/fosfato pH 6 (0,5 M) con cloruro de sodio (NaCl) durante 1 hora a 4 °C.

Los tubos se centrifugaron 2 veces por 20 minutos, los sobrenadantes claros se gelfiltraron mediante el empleo de una columna de Sephadex G-25 de acuerdo a la metodología descrita por el fabricante (General Electric, Health Care). La invertasa se eluyó de la columna con tapón de extracción y fue utilizada en la determinación de actividad.

Para la determinación de la actividad enzimática se verificó el tiempo de reacción catalizado por la invertasa durante el cual la velocidad de formación de producto es constante y máxima. Por esta razón se determinó la cinética de

formación de producto durante 4h y en intervalos de tiempo de 1 hora a 40 °C, para todos los extractos se utilizó la curva de calibración presentada en el Gráfico A1.

Se tomo 0,5 ml de la muestra obtenida con enzima obtenida más 0,5 ml de sustrato (sacarosa), y cada hora se detuvo la reacción con 1 ml de ácido 3,5 dinitro salicílico (DNS) (Miller, 1959), se hirvió las muestras por 5 minutos se añadió 8,6ml de agua destilada y se procedió a la lectura de la absorbancia.

La preparación del blanco se realizó invirtiendo el orden de adición de los reactivos, colocando 0,5 ml de la muestra enzimática, inactivándola con 1ml de DNS para luego añadir 0,5 ml de sustrato (sacarosa).

Las absorbancias se reportan en la Tabla A16 y A17.

Adicionalmente, se determinó el peso de las uvillas, el contenido de sólidos de las muestras utilizando un medidor de grados brix (°Brix) y el pH medido con un potenciómetro, junto con los valores de porcentaje de humedad que se reportan en las Tablas A2.

3.7 Procesamiento y análisis.

Tanto para la cuantificación de glucosa como para la estimación del contenido de almidón se utilizó un diseño de bloques con arreglo factorial AxB; siendo (A) Estados de madurez y (B) La aplicación de tutoreo, y para la determinación de la actividad enzimática de la invertasa se empleó un diseño de bloques con arreglo factorial AxBxC. Los factores estudiados fueron: (A) Aplicación de tutoreo; (B) Estados de madurez; y (C) Tiempo de la actividad de generación de producto de la enzima: .El procesamiento y análisis estadístico de la información se realizó en los programas Excel y STATGRAPHICS. Mediante análisis de varianza ANOVA y pruebas de comparación múltiple para determinar el mejor tratamiento, con el 95 % de confianza.

CAPÍTULO IV

4 Análisis e interpretación de resultados

La maduración de las frutas es un proceso que las hace más agradables al paladar porque las frutas se vuelven más dulces, más suaves, menos verdes y menos ácidas conforme maduran. Durante la maduración se produce entre otros procesos la degradación enzimática de polisacáridos de reserva como el almidón que se transforma en compuestos solubles en agua como la fructosa, glucosa y sacarosa.

Los resultados presentados en la Tabla A1 (Anexos) muestran que las uvillas (*Physalis peruviana*) cultivadas con tutoreo alcanzan un mayor tamaño y pesan aproximadamente el doble con relación a las muestras de fruta cultivadas sin tutoreo. En el caso de las uvillas verdes esa diferencia fue de $1,62 \pm 0,17$ gr a $3,54 \pm 0,35$ gr; en las uvillas pintonas el peso varió de $2,77 \pm 0,57$ gr a $6,91 \pm 0,36$ gr y en las uvillas maduras el peso se incrementó de $4,67 \pm 0,37$ gr a $8,28 \pm 0,55$ gr.

Además del peso de la fruta, se determinó el contenido de sólidos solubles en el producto extraído por molienda de las uvillas con diferentes grados de madurez, cultivadas con y sin tutoreo. En las uvillas verdes y pintonas existe una diferencia de 2 °Brix entre las uvillas cultivadas con y sin tutoreo, siendo el contenido mayor en las uvillas cultivadas con tutoreo. En el caso de las uvillas verdes, el contenido de sólidos solubles fue de 6 °Brix para uvillas sin tutoreo y de 8 °Brix en las uvillas con tutoreo y en las uvillas pintonas estos valores fueron de 9 y 11 °Brix, respectivamente. Para las uvillas maduras el contenido de sólidos se incrementó en aproximadamente 1 °Brix de 14,3 °Brix en uvillas sin tutoreo a 15,2 °Brix en uvillas con tutoreo lo que evidencia un mayor desarrollo y más rápida maduración de la fruta cuando está más expuesta a la luz (Tabla A2). En relación al pH, se observó que el valor descendió de 5 a 4

con la maduración en uvillas con y sin tutoreo (Tabla A2). Este fenómeno se produce porque los ácidos se degradan durante la maduración de las frutas.

4.1 Cuantificación de almidón

Cada fruta madura naturalmente de acuerdo a su propio ritmo en ausencia de algún agente que acelere su maduración. La generalidad de frutas tiene un contenido mayor de almidón cuando no han alcanzado su madurez. Uno de los procesos que se desarrollan durante la maduración es la reducción en el contenido de almidón y el incremento en la cantidad de azúcares (glucosa y sacarosa).

En la Tabla A4 se registran los datos para el cálculo del contenido de almidón en la uvilla en tres estados de madurez, cultivada con y sin tutoreo. En la Tabla A5 se observa la disminución en el contenido de almidón que experimentan las uvillas a medida que avanza el proceso de maduración. El contenido de almidón en uvillas verdes sin tutoreo fue de 6,48% y bajó a 2,82% en la fruta madura, mientras que en uvillas verdes con tutoreo fue de 9,63% y bajó a 2,70% en la fruta madura con tutoreo.

Como se observa en el gráfico A2 el contenido de almidón en uvillas verdes con tutoreo es mayor con un valor medio de 9,63 % en comparación de 6,48% del almidón presente en uvillas verdes sin tutoreo y disminuye en ambos según avanza su estado de madurez, es decir la aplicación del tutoreo produce cambios desde el inicio de la formación del fruto de la uvilla (*Physalis peruviana*).

En la Tabla B1 se muestra los resultados del análisis de varianza en la determinación del contenido de almidón, utilizando el 95% de nivel de confianza; se demuestra que existe diferencia significativa al aplicar los niveles del factor a (Estados de madurez), b (Aplicación de tutoreo).

La prueba de comparación múltiple (Tukey) de la Tabla B2 con respecto al Estado de madurez y al almidón con un 95% de nivel de confianza, muestra

que en las uvillas verdes existe mayor cantidad de almidón con una media de abs de 3,5265 que da un contenido de 8,09% mientras que en uvillas maduras tiene 0,96 de abs el cual representa 2,19% de contenido.

La Tabla B3 de la prueba de comparación múltiple para análisis de almidón con aplicación de tutoreo (con un 95 % de nivel de confianza), indica que en el tratamiento que se aplica tutoreo existe mayor cantidad de almidón con un porcentaje de 6,21% en relación al 4,38 % de uvilla sin tutoreo

La Tabla B4 de la prueba de comparación múltiple de almidón para la interacción de estado de madurez y aplicación de tutoreo con un 95 % de nivel de confianza, indica que el tratamiento uvilla verde con tutoreo presenta mayor promedio de porcentaje de almidón 9,55%. En el gráfico B1 se visualiza la interacción de estado de madurez y aplicación de tutoreo en el contenido de almidón, indicando que existe una mayor cantidad de almidón en uvilla verde con tutoreo, en la tabla 3 se resumen los valores experimentalmente obtenidos para el almidón.

Tabla 3. Contenido de gr almidón/100 gr de uvilla seca obtenido de uvillas con y sin tutoreo

Sin tutoreo	Promedio±DS (gr almidón/100 gr)
Verde	6,48±0,58
Pintona	5,66±0,52
Madura	2,82±0,62
Con tutoreo	Promedio±DS(gr almidón/100 gr)
Verde	9,63±0,30
Pintona	7,69±0,46
Madura	2,70±0,55

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

4.2 Cuantificación de glucosa

La presencia de glucosa se debe al aporte de dos fuentes, por un lado la degradación del almidón y por otro la hidrólisis de parte de la sacarosa sintetizada por la planta. En la cuantificación de glucosa se analizó muestras en sus tres estados de madurez con y sin tutoreo por triplicado obteniendo absorbancias que se muestran en la Tabla A7 con sus respectivos factores de dilución y, los porcentajes presentes en la fruta obtenidos a partir de la curva estándar de glucosa se presentan en la tabla A10 para uvillas con y sin tutoreo. Se observa que existe mayor presencia de glucosa en las uvillas maduras cultivadas con tutoreo con una media de 3,67% frente a una media de 3,37% de uvillas maduras sin tutoreo, es decir el tutoreo ayudó a obtener una mayor cantidad de glucosa en la uvilla en su última etapa de madurez.

Este aumento de glucosa en cada estado de madurez en ambas aplicaciones del tutoreo se visualiza en el gráfico A4, notándose claramente los beneficios del tutoreo.

En la Tabla B6 se presenta los resultados del análisis de varianza para el contenido de glucosa, utilizando el 95 % de nivel de confianza se demuestra que existe diferencia significativa al aplicar los niveles del factor a (Estados de madurez) y b (Aplicación de tutoreo).

La prueba de comparación múltiple (Tukey) para glucosa con respecto al estado de madurez Tabla B7 con un 95 % de nivel de confianza, muestra que en las uvillas maduras existe mayor cantidad de glucosa con un contenido promedio de 3,16%.

La Tabla B8 de la prueba de comparación múltiple para análisis de glucosa con aplicación de tutoreo con un 95 % de nivel de confianza, indica que el tratamiento en el cual se aplica tutoreo presenta mayor contenido de glucosa con un porcentaje de 2,21 %.

La Tabla B9 de la prueba de comparación múltiple de glucosa para la interacción de estado de madurez y aplicación de tutorio con un 95 % de nivel de confianza, indica que el tratamiento de uvilla madura con tutorio presenta mayor porcentaje 3,66 % y en el gráfico B2 se visualiza la interacción de estado de madurez y aplicación de tutorio en el contenido de glucosa, indicando una mayor concentración de glucosa en uvilla madura con tutorio, esto se visualiza el resumen se describe en la Tabla 4 que se muestra a continuación.

Tabla 4. Contenido en gr de glucosa por 100 gr de uvilla seca obtenida de uvillas con y sin tutorio

Sin tutorio	Promedio±DS (gr de glucosa por 100 gr)
Verde	0,375±0,02
Pintona	1,694±0,03
Madura	3,377±0,08
Con tutorio	Promedio±DS (gr de glucosa por 100 gr)
Verde	0,472±0,03
Pintona	2,049±0,02
Madura	3,674±0,02

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

4.3 Cuantificación de sacarosa

Se cuantificó sacarosa por medio de una hidrólisis ácida y se tomó las absorbancias en muestras en sus tres estados de madurez con y sin tutorio por triplicado como se indica en la tabla A11 con cada dilución aplicada. Las concentraciones calculadas a partir de la curva de calibración se presentan en la tabla A13 para uvillas con y sin tutorio las cuales revelan una mayor concentración de sacarosa en las uvillas maduras con tutorio con un porcentaje promedio de 7,68 % en relación a 6,41 % de uvillas maduras sin tutorio, por ende el tutorio aporta en la uvilla una mayor concentración de sacarosa en su etapa final de madurez.

El aumento de sacarosa en cada estado de madurez en ambas aplicaciones del tutoreo se muestra en el gráfico A5, indicando un mejor desempeño en las uvillas con tutoreo los resultados se describen en la tabla 5.

Tabla 5. Contenido en gr de sacarosa por 100 gr de uvilla seca obtenida de uvillas con y sin tutoreo

Sin Tutoreo	Promedio±DS (gr de sacarosa por 100 gr)
Verde	3,23±0,14
pintona	3,92±0,20
Madura	6,41±0,45
Con Tutoreo	Promedio±DS (gr de sacarosa por 100 gr)
verde	5,35±0,25
pintona	6,61±0,12
madura	7,68±0,14

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

4.4 Cuantificación de azúcares reductores

Se analizó por triplicado los azúcares reductores aplicando la técnica de Miller o DNS en los tres estados de madurez en uvilla con y sin tutoreo presentado los valores de las absorbancias presentadas en la tabla A14 y sus diluciones aplicadas, y las concentraciones se obtuvieron por medio de la curva de calibración que se reportan en la tabla A15 para uvillas con y sin tutoreo mostrando mayor existencia de azúcares reductores en las uvillas maduras con tutoreo con porcentaje de 7,10 % en relación a una media de 6,65 % de uvillas maduras cultivadas sin tutoreo, indicando que el tutoreo en la uvilla influye en la concentración de azúcares reductores, esto se visualiza de una mejor manera en el gráfico A6 desde su concentración en uvillas verdes a maduras, los resultados finales se presentan a continuación en la Tabla 6:

Tabla 6. Contenido en gr de azúcares reductores por 100 gr de uvilla seca obtenida de uvillas con y sin tutoreo

Sin tutoreo	Promedio±DS (gr de azúcares reduc. por 100 gr)
--------------------	---

Verde	0,96±0,01
Pintona	3,65±0,03
Madura	6,65±0,09
Con tutoreo	Promedio±DS (gr de azúcares reduc. por 100 gr)
Verde	1,43±0,05
Pintona	4,59±0,27
Madura	7,10±0,05

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

4.5 Determinación de la actividad enzimática de la invertasa

La actividad enzimática de la invertasa se determinó por medio de la cuantificación de azúcares reductores producidos a partir de la sacarosa, ya que la invertasa rompe el enlace que une los dos componentes de la sacarosa a glucosa y fructosa.

Mediante la técnica de Miller o DNS aplicada muestras de los tres estados de madurez en la uvilla sin tutoreo por triplicado durante 4 horas, se obtuvo los valores de absorbancias de los azúcares reductores en la tabla A16, para uvillas sin tutoreo y en la tabla A17 para uvillas con tutoreo los valores de las absorbancias se transformaron a contenido de azúcares por medio de la curva de calibración y se muestra en la tabla A18 para uvilla sin tutoreo durante las 4 horas de cinética de formación de producto de la invertasa obteniendo mayor actividad en la última etapa de madurez con una media de 1,06±0,03mg/ml de azúcares reductores a la cuarta hora y en la tabla A19 se muestran los resultados para uvillas con tutoreo se obtuvo mayor actividad en la última etapa de madurez con una media de 1,39±0,03 mg/ml de azúcares reductores a la cuarta hora lo que nos indica que la uvilla con tutoreo posee mayor actividad catalizada por la invertasa debido a que presta mejores condiciones para el desarrollo del fruto.

Se visualiza en el gráfico A7 la actividad de la invertasa en uvilla sin tutoreo y en el gráfico A8 para uvilla con tutoreo visualizando que la actividad enzimática en sus tres estados de madurez durante las cuatro horas es

mayor en uvillas con tutoreo es decir presenta un mayor contenido de azúcares reductores.

En la Tabla B10 se presenta los resultados del análisis de varianza en el análisis de actividad enzimática de la invertasa, utilizando el 95 % de nivel de confianza se demuestra que existe diferencia significativa al aplicar los niveles del factor a(Aplicación de tutoreo), b(Estados de madurez) y c(Tiempo de actividad de la enzima).

La prueba de comparación múltiple (Tukey) para glucosa con respecto al estado de madurez Tabla B11 con un 95 % de nivel de confianza, muestra que en las uvillas con tutoreo existe mayor velocidad de formación de producto catalizado por la enzima con un contenido de 0,738 mg/ml de azúcares reductores .

La Tabla B12 Prueba de comparación múltiple de actividad enzimática con el estado de madurez con un 95 % de nivel de confianza, indica que el tratamiento que se aplica tutoreo presentó mayor cinética de formación de producto con un promedio de absorbancia de 0,986 mg/ml de azúcares reductores.

La Tabla B13 de la prueba de comparación múltiple en el tiempo de cinética de formación de producto con un 95 % de nivel de confianza, indica que el tratamiento en el cual cuarta hora presenta mayor promedio con un valor de 0,797mg/ml de azúcares reductores.

La Tabla B14 de la prueba de comparación múltiple para interacción de aplicación de tutoreo y estado de madurez en la actividad enzimática con un 95 % de nivel de confianza, indica que el tratamiento de uvilla madura presenta mayor actividad de cinética enzimática con un valor de 1,13mg/ml de azúcares reductores, lo que se observa en el gráfico B3.

La Tabla B15 de la prueba de comparación múltiple para interacción la aplicación de tutoreo y tiempo de la actividad enzimática con un 95 % de

nivel de confianza, indica que el tratamiento con tutoreo a la cuarta hora presenta mayor cinética de la enzima con un contenido de 0,88mg/ml de azúcares reductores, mostrado en el gráfico B4.

La Tabla B16 de la prueba de comparación múltiple para interacción del estado de madurez y tiempo de la actividad de enzima con un 95 % de nivel de confianza, indica que las uvillas maduras a la cuarta hora presentan mayor cinética de la enzima contenido de 1,21mg/ml de azúcares reductores, debido a la hidrólisis de la enzima representado en el gráfico B5.

La Tabla B17 de la prueba de comparación múltiple para la interacción de aplicación de tutoreo, estado de madurez y tiempo de actividad de la enzima con un 95 % de nivel de confianza, indica que las uvillas maduras con tutoreo a la cuarta hora presenta mayor actividad de la enzima con un promedio de contenido de 1,37mg/ml de azúcares reductores.

A continuación se resume en la tabla 7 los valores de producto formado debido a la actividad de la invertasa.

Tabla 7. Contenido de azúcares reductores producidos durante la hidrólisis de sacarosa producida por la invertasa para muestras de uvillas con y sin tutoreo con tres estados de madurez expresados en mg/ml de azúcares reductores

Estado de madurez	Sin tutoreo	Con tutoreo
Verde	Promedio±DS (mg/ml)	Promedio±DS (mg/ml)
Hora 1	0,21±0,01	0,29±0,01
Hora 2	0,25±0,01	0,35±0,02
Hora 3	0,32±0,02	0,38±0,02
Hora 4	0,39±0,01	0,44±0,02
Pintona	Promedio±DS (mg/ml)	Promedio±DS (mg/ml)
Hora 1	0,46±0,01	0,56±0,02
Hora 2	0,55±0,01	0,69±0,01
Hora 3	0,62±0,01	0,76±0,01
Hora 4	0,67±0,01	0,84±0,01
Madura	Promedio±DS (mg/ml)	Promedio±DS (mg/ml)
Hora 1	0,62±0,03	0,86±0,02
Hora 2	0,79±0,03	1,03±0,04
Hora 3	0,89±0,05	1,27±0,05
Hora 4	1,06±0,03	1,39±0,03

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Tabla 8. Influencia del Tutoreo indicado con el mejor tratamiento en uvilla (*Physalis peruviana*)

Aplicación de tutoreo	Almidón uvilla verde (gr de almidón por 100 gr)	Glucosa uvilla madura (gr de glucosa por 100 gr)	Actividad enzimática (4h) uvilla madura (mg/ml)
Sin Tutoreo	6,48±0,58 ^a	3,377±0,08 ^a	1,06±0,03 ^a
Con Tutoreo	9,63±0,30 ^b	3,674±0,02 ^b	1,39±0,03 ^b

Los resultados fueron evaluados por triplicado ± desviación estándar, diferentes letras en la columna indican diferencia significativa ($p < 0,05$ prueba de Tukey)

4.6 Verificación de hipótesis

Luego de haber analizado los niveles de almidón, azúcares y la actividad de la invertasa en muestras de uvilla con y sin tutoreo a diferentes estados de madurez mediante métodos espectrofotométricos, medición de °brix y pH, podemos aceptar la hipótesis alternativa que señala “Los estados de maduración de la uvilla se pueden evaluar mediante la cuantificación del contenido de almidón, azúcares e invertasa”.

CAPÍTULO V

5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- Se evaluó experimentalmente el proceso de maduración de la uvilla (*Physalis peruviana*) a través de la cuantificación de azúcares, almidón e invertasa en tres estados de madurez y la incidencia de la aplicación de tutoreo en las variables antes mencionadas, observando los cambios que se producen conforme avanza la maduración del fruto a fin de obtener las propiedades deseadas para realizar una cosecha en el punto de madurez adecuado
- Los contenidos de almidón en uvillas con y sin tutoreo verdes varió entre 6,48% y 9,63% de fruta, expresados en base seca, en uvillas pintonas se redujo al rango de 5,6% y 7,69 % y en uvillas maduras apenas alcanzó valores entre 2,70% y 2,82 % La desaparición del almidón dio lugar a la formación de azúcares, el contenido de sacarosa en mejor tratamiento como es tutoreo se incrementó de 5,35% en uvillas verdes a 7,68% en uvillas maduras. El contenido de glucosa varió entre 3,67gr glucosa/100 gramos uvilla madura seca, en uvillas pintonas 2,04 gr glucosa/100 gramos uvilla a seca y 0,47 gr glucosa/100 gramos uvilla verde. El nivel de invertasa fue mayor para uvillas maduras. La cinética de formación de producto de esta enzima fue de 0,84 mg/ml en uvillas pintonas y 1,39mg/ml en uvillas maduras, comprobándose a nivel de laboratorio que existe mayor actividad enzimática en uvillas maduras así como más cantidad de azúcares reductores, totales y glucosa en uvillas maduras y mayor concentración de almidón en uvillas verdes. El análisis estadístico determinó que las variaciones producidas en estos parámetros son significativas en los tres estados de madurez.
- En el proceso investigativo se relacionó las variaciones que sufre la uvilla desde su primera etapa de desarrollo, fruto verde, con altos niveles de

almidón hasta su disminución y conversión en azúcares que se manifiesta en el incremento de °brix (parámetro de fácil determinación) y se ve reflejado en propiedades físicas como el color del fruto que comienza con tonalidad verde y adquiere un tono naranja intenso a partir de 13° brix en adelante cuando alcanza el estado de madurez; sin embargo, la coloración del capuchón no siempre revela la madurez del fruto debido a múltiples factores como enfermedades en la planta, mal formación del capuchón, etc. Todo el estudio está encaminado a la obtención de un mejor aprovechamiento y tiempo adecuado al momento de cosechar la uvilla y que el agricultor logre apreciar el estado de madurez con una idea del contenido de azúcares que posee el fruto al momento de la recolección, particularmente en función de la aplicación que se le vaya a dar.

- Se contrasta el efecto que tiene la aplicación del tutoreo en el desarrollo del fruto y en el tiempo de maduración de la uvilla, evidenciando que tamaños mayores del fruto y niveles más altos de concentración en cada uno de los parámetros analizados se obtienen con uvillas cultivadas con tutoreo. Se observó que existe diferencia significativa con un fruto en el que no se aplica tutoreo en cuanto a la cantidad de almidón que en uvillas con tutoreo es de 9,63gr/100 gr uvilla seca mientras que en uvillas sin tutoreo es de 3,50mg/ml, la cantidad de glucosa en uvillas con tutoreo es de 6,48 gr/100 gr uvilla seca, , y los niveles de actividad de la enzima en uvillas con tutoreo es de 1,39mg/ml y en uvillas que no se aplica el tutoreo es de 1,06mg/ml es decir el tutoreo facilita el desarrollo y la maduración del fruto de la uvilla como se evidencia en la tabla 8 en el mejor tratamiento.

5.2 Recomendaciones

- Al momento de recolectar los frutos de uvilla para análisis en el laboratorio procurar transportarlos a bajas temperaturas con ayuda de ice pack o hielo seco para mantener las propiedades reales de los frutos de la uvilla y así tener una idea clara de las condiciones que presenta en la planta al momento de la cosecha.
- Efectuar un estudio en base a las vitaminas y su relación con el tutoreo aplicado en la uvilla (*Physalis peruviana*).
- Explorar nueva metodología que complemente el tutoreo y mejore la eficiencia en el desarrollo de las propiedades de la uvilla.
- En la preparación de soluciones madre trabajar con pesos para eliminar el error del operador y de calibración de pipetas y así obtener concentraciones reales.
- En base a los resultados obtenidos, se recomienda la aplicación del tutoreo en la siembra de uvilla debido a que se evidencia notables beneficios al momento de cosechar el fruto como el aumento de tamaño, cantidad de glucosa, azúcares reductores, etc.

CAPÍTULO VI

6 PROPUESTA

6.1 Datos informativos

Título: “Aplicación de tutorío en la siembra de uvilla (*Physalis peruviana*) para obtener un mejor aprovechamiento de la planta y las propiedades del fruto con relación al contenido de °Brix”

Institución Ejecutora: Universidad Técnica de Ambato, mediante la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Carrera de Ingeniería Bioquímica.

Beneficiarios: Pequeños y medianos agricultores dedicados a la siembra de uvillas (*Physalis peruviana*).

Director del Proyecto: Ing. Mg. Cecilia Carpio

Personal Operativo: Egdo. Vinicio Herrera

Ubicación: Ambato – Ecuador

Tiempo estimado de duración: 6 meses

Fecha de inicio: Agosto 2014.

Costo: \$ 1200

6.2 Antecedentes de la propuesta

Zapata (2002), mencionado por Altamirano (2010) en su estudio de la cadena productiva de uvilla (*Physalis peruviana*) en la Sierra Norte del Ecuador, nos dice que aunque la uvilla se ha desarrollado a partir de las oportunidades de exportación identificadas para este producto en los mercados internacionales, todavía no se cuenta con una oferta tecnológica adecuada para el buen manejo de la fruta durante las etapas de producción, cosecha y pos-cosecha. La implementación de tecnología adecuada y de certificaciones de calidad es necesaria para el desarrollo del sector productivo en uvilla.

La planta de uvilla es un arbusto muy denso, por lo que en plantaciones comerciales es necesario conducir o tutorar con el fin de que la disposición de las ramas y tallos faciliten las labores agrícolas (podas, deshierbas, controles fitosanitarias, riego y cosechas). El objetivo del tutorado es facilitar la entrada de la luz y favorecer la aireación del cultivo, esto mejora la calidad de la fruta y reduce el ataque de enfermedades), si bien quedan más expuestas al ataque de aves en la época en que escasea la comida.

El portal Ehow en español (2014) menciona que los °Brix son una medida de la cantidad de azúcar en una solución por el valor del total de esa solución. Una solución que tiene 10 °Brix contiene 10 gramos de azúcar por cada 100 gramos de solución, o, si la solución es simplemente azúcar y agua, hay 90 gramos de agua y 10 gramos de azúcar. Esta medida generalmente se usa en la confección del vino para determinar el contenido de alcohol potencial de dicha bebida.

6.3 Justificación

Altamirano (2010), la cosecha de la fruta en un punto adecuado de madurez es fundamental para la preservación y comercialización en buen estado, debido a que el grado de madurez condiciona el almacenamiento y la calidad final, de esta manera al relacionar los grados Brix con el color de la fruta , se incentiva al agricultor a utilizar técnicas analíticas fáciles y mucho más exactas para poder controlar sus propias siembras con una simple observación del contenido de azúcares del producto en un brixómetro. La uvilla es un cultivo rentable, el establecimiento de comercializadoras externas e internas de fruta fresca y de productos transformados ha generado un mayor dinamismo y cantidad en la oferta del producto.

El sistema de tutoreo brinda muchos beneficios a la planta entre ellos está el soporte que le da para una mejor aireación del fruto y la oportunidad de aprovechar de una mejor manera la luz solar, El tutoreo mantiene las plantas erectas y evita que los frutos entren en contacto con el suelo y por tanto evita que se presenten pudriciones, por ende aumenta la calidad del fruto ya que sirve como soporte en el desarrollo de la planta y por ende del fruto.

6.4 Objetivos

6.4.1 Objetivo General

- ❖ Establecer los beneficios de la aplicación del tutoreo y demostrar mediante su contenido de azúcares (grados Brix) en uvillas (*Physalis peruviana*) maduras cultivadas con tutoreo el aumento del grado de dulzor de la fruta.

6.4.2 Objetivos específicos

- ❖ Determinar los valores de grados °Brix durante el proceso de maduración de la uvilla.
- ❖ Establecer la relación entre °Brix (dulzor de la uvilla) y los parámetros que influyen en el tutoreo del fruto.
- ❖ Diseñar un cuadro de comparaciones °Brix en diferentes etapas del desarrollo de la uvilla, para el agricultor para verificar el estado de madurez del fruto al momento de la cosecha de la uvilla cultivada por tutoreo.

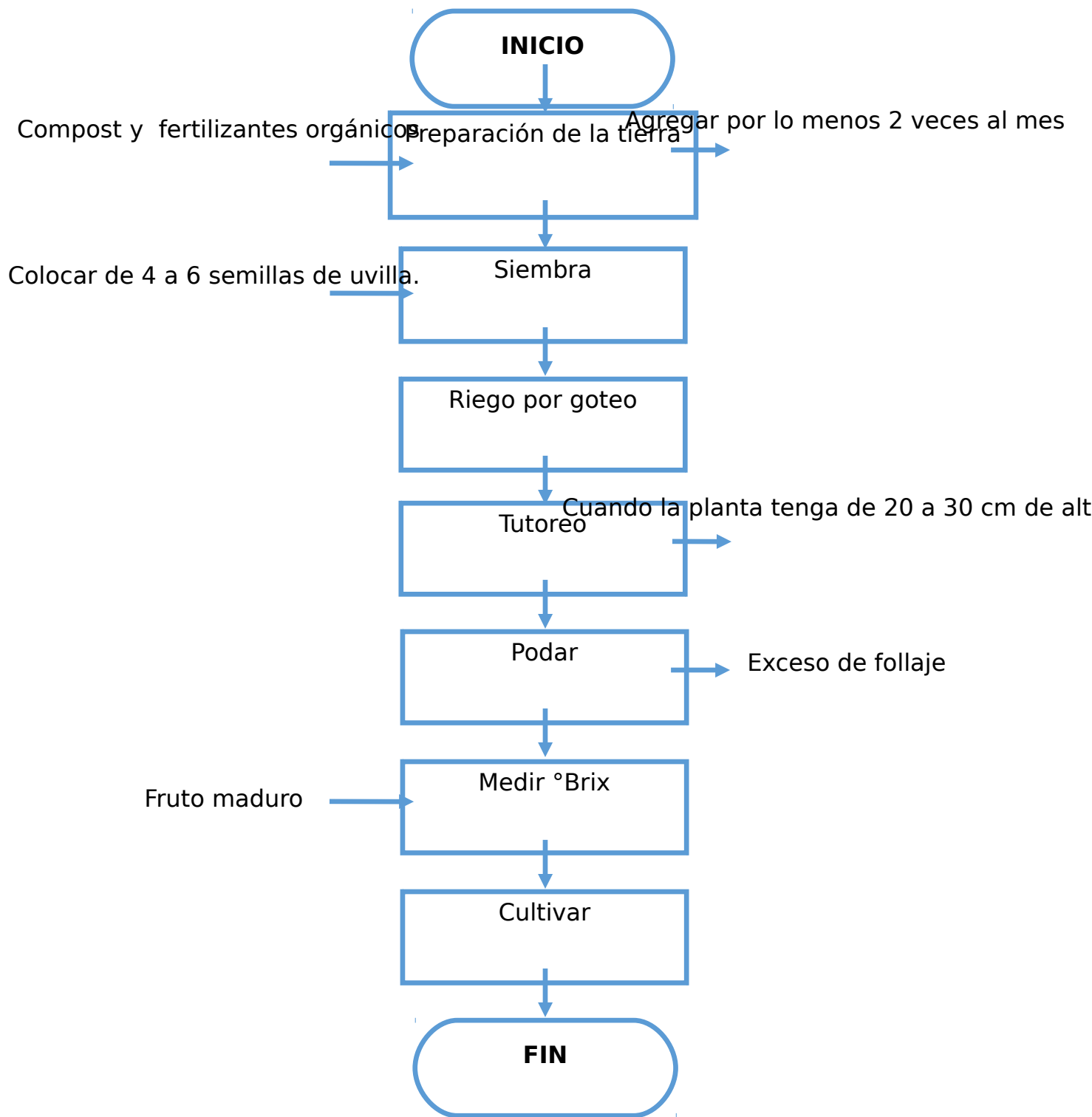
6.5 Análisis de factibilidad

La propuesta es de tipo investigativo y experimental, de esta manera se puede brindar herramientas de control a los agricultores para determinar el mejor tiempo de cosecha y aprovechamiento de los parámetros que brinda el tutoreo en mejora de calidad en frutos de uvilla (*Physalis peruviana*), además, es de carácter sociológico puesto que contribuye a reducir las pérdidas económicas debido al nivel de aprovechamiento de los recursos productivos obtenidos

6.6 Fundamentación

La uvilla posee propiedades nutricionales importantes, entre las que se puede mencionar las siguientes: reconstruye y fortifica el nervio óptico, elimina la albúmina de los riñones, ayuda a la purificación de la sangre, es eficaz en el tratamiento de las afecciones de la garganta; adelgazante, ideal para los diabéticos; aconsejable para los niños, porque ayuda a la eliminación de parásitos intestinales; favorece el tratamiento de las personas con problemas de próstata, por sus propiedades diuréticas; y constituye un excelente tranquilizante debido al contenido de flavonoides.

6.7 Metodología



6.7.1 Siembra por tutoreo

Para realizar el tutoreo se tomará en cuenta el tamaño de la planta, es decir la planta debe medir entre 20 y 40 cm ya que este es el rango ideal para aplicar la técnica, esto se realiza a través de un amarre en el tallo principal de las plantas con ayuda de una estaca o rafia agrícola, utilizando una vuelta floja o una abrazadera plástica, también llamada anillo para tutorado, pueden estar ligadas a un cable principal que sostiene a la planta, esto para lograr una mejor producción y frutos más inocuos y para que en el momento de la cosecha sea más fácil su recolección.

6.7.2 Análisis de glucosa

Para realizar el análisis de glucosa se tomará una muestra de 100 gr de uvillas maduras con tutoreo y se procederá a la extracción del jugo triturándolas en un mortero o en una licuadora, descartando la cáscara y semillas hasta obtener el jugo sin impurezas, de ser necesario se centrifugará para eliminar posibles interferencias.

Luego mediante una curva de calibración preparada con una solución patrón de glucosa y su cuantificación mediante el método enzimático colorimétrico (reacción de Trinder) con Monoreactivo R1 GLUCOSA MR (Linear Chemicals S.L), se cuantificará la glucosa a través de la medición de la absorbancia a 500 nm frente un blanco preparado con 2 ml de R1: Monoreactivo y 200 μ L de agua destilada.

En la preparación de la muestra para análisis se tomará 2 ml de R1: Monoreactivo y 200 μ L de la muestra cuyo contenido de glucosa se desea analizar.. A continuación se determinará la absorbancia en un espectrofotómetro a 500 nm y se determinará el contenido de glucosa con los valores con la curva de calibración.

6.7.3 Análisis de °brix

El análisis de °Brix se lo hará por medio de un brixómetro que es un instrumento óptico de precisión que permite medir la concentración de sustancias (azúcar) en soluciones acuosas, basa su funcionamiento en la determinación de la refracción de la luz.

Los grados Brix miden el cociente total de azúcares como glucosa disuelta en un líquido. Una solución de 25 °Brix tiene 25 gramos de azúcar (sacarosa) por 100 gramos de líquido o, dicho de otro modo, hay 25 gramos de sacarosa y 75 gramos de agua en 100 gramos de la solución.

Para analizar los grados °brix en la uvilla se deposita de 3 a 4 gotas de muestra de uvilla madura con tutoreo extraída con ayuda de un mortero o licuadora sobre la parte del cristal del refractómetro o brixómetro. Se apunta el brixómetro a un fuerte o foco de luz y, ajustando su ocular enfocable nos dará una lectura en la escala del refractómetro, en grados Brix.

6.8 Administración de la propuesta

Indicadores a mejorar	Situación actual	Resultados esperados	Actividades	Responsables
Relación directa entre °Brix y glucosa de uvillas	Falta de información sobre el grado de dulzor por parte de los agricultores	<p>Aprovechamiento de los de la uvilla en productos derivados</p> <p>Determinar que la relación °Brix y glucosa ayude significativamente al control del producto por parte de los agricultores.</p>	<p>Tutoreo de las plantas de uvilla</p> <p>Obtención de un buen producto en la cosecha</p> <p>Facilidad de identificación del grado de dulzor en la uvilla</p>	<p>Docente:</p> <p>Ing. Mg. Cecilia Carpio.</p> <p>Investigador:</p> <p>Egdo. Vinicio Herrera</p>

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014.

6.9 Previsión de la evaluación

Preguntas Básicas	Explicación
Preguntas Básicas	<ul style="list-style-type: none"> • Explicación
¿Quiénes solicitan evaluar?	<ul style="list-style-type: none"> • Sector de la investigación científica • Pequeños y medianos productores de uvilla.
¿Por qué evaluar?	<ul style="list-style-type: none"> • Proporciona información de nuevas tecnologías.
¿Para qué evaluar?	<ul style="list-style-type: none"> • Para brindar soluciones viables y sustentables a problemas comunes en la agricultura.
¿Qué evaluar?	<ul style="list-style-type: none"> • Proceso de Postcosecha y Cosecha • Mejorar la producción.
¿Quién evalúa?	<ul style="list-style-type: none"> • Tutor • Calificadores
¿Cuándo evaluar?	<ul style="list-style-type: none"> • Durante la siembra del producto Después de la cosecha
¿Cómo evaluar?	<ul style="list-style-type: none"> • Midiendo el parámetro establecido y tabulando datos obtenidos
¿Con qué evaluar?	<ul style="list-style-type: none"> • Programas de análisis estadísticos

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014.

7 Bibliografía

1. Agronet 2013, "Manejo Del Cultivo De La Uchuva En Colombia", Disponible en:
http://www.agronet.gov.co/www/docs_si2/Cultivo%20de%20uchuvas.pdf.
Viernes, 27 de septiembre de 2013 3:18:15.
2. Alinorm 01135. 2002. Apéndice y Proyecto de Norma del Codex para Uvilla (En Tramite 8) Ecuador.
3. Almanza, P.J., Fischer, G. 1993. La uchuva (*Physalis peruviana* L): Una alternativa promisoriosa para las zonas frías de Colombia, Agricultura Tropical, Palmira, 30(1): 79-87.
4. Altamirano, M.A. 2010. estudio de la cadena productiva de uvilla (*Physalis peruviana* L.) en la Sierra Norte del Ecuador, Colegio de Agricultura, Alimentos y Nutrición. Tesis de Ingeniero en Agroempresa, Universidad San Francisco de Quito. Quito, Ecuador. 107p.
5. Álvarez, G., Campoverde, G., Espinosa, M. 2012. "Manual técnico para el cultivo de uvilla *Physalis peruviana* en Loja" de la Carrera de ingeniería agronómica de la Universidad Nacional de Loja, Loja – Ecuador 22pp.
6. Barrantes, R. 1999. "Investigación un camino al conocimiento", Primera edición, editorial universal a distancia, Pág.56-58, San José, Costa Rica,
7. Brito, D. 2002. "Producción de uvilla de exportación" Federación, Ecuatoriana de Tecnología Apropriada (FEDETA).
8. Constitución de la República del Ecuador. 2008, 179p.
9. Dobles, C., Zuñiga, M. y García, J. (1998). Investigación de educación: procesos interacciones y construcciones. San José: EUNED.
10. Ecofinsa, 2011. Uvilla ó uchuva. Paraíso frutas ecuatorianas de calidad. Disponible en <http://www.ecofinsa.com/uvilla.html>. viernes, 04 de noviembre de 2013 6:17:39
11. FAO, 2000. Comité de problemas de productos básicos subgrupo sobre frutas tropicales. Primera reunión Pattaya, Tailandia, 25 - 28 de mayo de 1998. Home Page, [http:// www.fao.org](http://www.fao.org).
12. Fischer, G., Flores, R., Ángel, D., Sora, R. 2000. Producción postcosecha y exportación de la uchuva *Physalis peruviana* L, Universidad Nacional de Colombia sede Santafé de Bogotá 175 pp.

13. Florez, L. 1986. Tecnología del cultivo de la uchuva. Tunja, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.
14. Flores, E., López, V. 2009. Perfil de la Uvilla. Centro de Información e Inteligencia Comercial CICO. Ibarra – Ecuador.
15. FONTAGRO 2008, “Desarrollo tecnológico para el fortalecimiento del manejo postcosecha de frutales exóticos exportables de interés para los países andinos: uchuva (*Physalis peruviana* L.), granadilla (*Passiflora Ligularis* L.) y tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.)”, Corporación Colombiana De Investigación Agropecuaria,
16. Gonzales, M. 2010, Conservación de mora, uvilla y frutilla mediante la utilización del aceite esencial de canela (*Cinnamomum Zeynalicum*), Tesis de grado previa la obtención del título de bioquímico farmacéutico otorgado por Escuela Superior Politécnica De Chimborazo, Riobamba – Ecuador 176pp.
17. Guzmán, F.A. 2014. Teoría del color. Laboratorio de producción grafica. Poligram Disponible en:
<http://teoriadelcolori.wikispaces.com/GUZMAN+FABIO+ANDRES>
(22/06/2014)
18. Hansen et al.(1997). Enzyme Activities in Cocoa Beans During Fermentation, Nestle Research Centre.
19. N/A. 2014. Cómo convertir los grados Brix en azúcar. Consultado en: http://www.Ehowen.espanol.com/convertir-grados-brix-azucar-como_40594/ (viernes, 13 de junio de 2014).
20. Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426 - 428.
21. Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2485:2009; Frutas frescas uvillas Requisitos, Primera edición 11 pp.
22. Instituto Colombiano de Normas Técnicas. 1999. Frutas frescas: uchuva, Bogotá: ICONTEC. 15 p. (Norma Técnica Colombiana; NTC-4580).
23. La coctelera. 2013. La Uvilla, Características Generales, Disponible en:<http://uvilla.espacioblog.com/categoria/caracteristicas-generales>. jueves, 14 de noviembre de 2013 9:37:36
24. MAG, 2006. Servicio de Información Agropecuaria. Subprograma de cooperación técnica. Convenio MAG/IICA. Disponible en:

<http://www.sica.gov.ec/agronegocios7biblioteca7convenio%20MAG%20IIICA/productos/uvillamagpdf>, fecha de acceso: 29 de Noviembre de 2013.

25. Medina, M. 1991. El cultivo de la uchuva tipo exportación. Revista Agricultura Tropical. Palmira, 28(2): 55-58p.
26. Patiño, V. M. 1963. Plantas cultivadas y animales domésticos en América Equinoccial. Cali: Imprenta Departamental, 547 p.
27. Pérez, E. 1996. Plantas útiles de Colombia. 5 ed. Cauca: Cargraphics, Pág. 707- 708.
28. Pilamala A. y Alvarado J. 2010. Estudio del mejoramiento de textura para jaleas de naranjilla (*Solanum Quitoense*), tomate de árbol (*Cyphomandra Betacea*) y uvilla (*Physalis peruviana*) utilizando quitosano. Trabajo de Investigación previa a la obtención del Título de Ingeniero en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería. Ambato, Ecuador. 164pp
29. Reglamento de la Normativa de la Producción Orgánica en el Ecuador, registro oficial 2006, 40 pp.
30. Romero, C. R. 1991. Frutos silvestres de Colombia. 2 ed. Bogotá: San Juan Eudes, 342 p.
31. Rotger, C. 2013. Cocina, Salud, Propiedades y Composición de Physalis o Alquequenjes, Mallorca, España Disponible: <http://www.cocinasalud.com/propiedades-y-composicion-del-physalis-o-alquequenjes/>.
32. Toapanta, S y Andrade, M. 2012. Cambios en la capacidad antioxidante durante el almacenamiento refrigerado de uvilla (*Physalis peruviana L.*) Orgánica sin capuchón tratada con radiación uv-c. Trabajo previo a la obtención del título de ingeniera de alimentos, Universidad Tecnológica Equinoccial, Quito – Ecuador 65pp.
33. Trinder, P., Determinación de Glucosa en sangre utilizando Glucosa Oxidasa con un aceptor de oxígeno alternativo, Ann. Clin. Biochem 6,24-25(1969).

- 34.** Zapata, J., Saldarriaga, A., Londono, M., Díaz, C. 2002. Manejo del Cultivo de la Uchuva en Colombia. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Corpoica, Centro de Investigación La Selva, Apartado Aéreo 100, Rionegro, Antioquia, Colombia. Boletín Técnico. 42 páginas

ANEXO A

RESPUESTAS EXPERIMENTALES

Tabla A1. Pesos de uvillas verdes, pintonas y maduras con y sin tutoreo.

N°	PESOS DE UVILLAS VERDES (gr)		PESOS DE UVILLAS PINTONAS (gr)		PESOS DE UVILLAS MADURAS (gr)	
	SIN TUTOREO	CON TUTOREO	SIN TUTOREO	CON TUTOREO	SIN TUTOREO	CON TUTOREO
	1	1,42	2,89	3,72	6,25	4,70
2	1,50	3,54	2,46	7,33	5,10	7,34
3	1,97	3,67	2,70	6,60	4,04	7,85
4	1,78	3,86	1,92	6,78	4,35	8,67
5	1,53	3,45	2,50	7,25	4,84	9,02
6	1,60	2,97	2,63	6,81	4,38	8,34
7	1,69	3,68	2,18	7,34	4,36	7,86
8	1,73	3,92	2,87	6,69	4,88	8,67
9	1,46	3,63	3,27	6,89	5,13	8,78
10	1,54	3,78	3,49	7,14	4,96	7,73
X	1,62±	3,54±	2,77±	6,91±	4,67±	8,28±
D.S	0,17	0,35	0,57	0,36	0,37	0,55

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Tabla A2. Lecturas de ° Brix, ph, humedad, de uvillas verdes, pintonas y maduras con y sin tutoreo.

SIN TUTOREO	° brix	ph	% de humedad	% seco
Verde	6	5	69,00	31,00
Pintona	9	4	78,33	21,67
Madura	14,3	4	81,67	18,33
CON TUTOREO	° brix	ph	% de humedad	% seco
Verde	8	5	65,67	34,33
Pintona	11	4	74,33	25,67
Madura	15,2	4	77,00	23,00

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

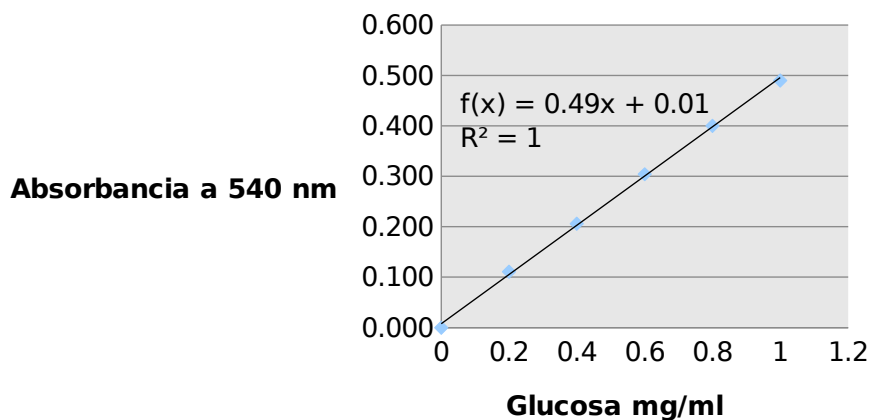
Tabla A3. Datos de absorbancia de la curva estándar de glucosa para lectura de almidón

Tubos	(Glucosa) mg/ml	DNS (ml)	Agua (ml)	Abs. a 540 nm
1	0,0	1	8,66	0,000
2	0,2	1	8,66	0,111
3	0,4	1	8,66	0,206
4	0,6	1	8,66	0,304
5	0,8	1	8,66	0,400
6	1,0	1	8,66	0,490

*La solución madre o stock utilizada contiene 1 mg/ml. **Elaborado por:** Vinicio Herrera, 2014

Gráfico A1. Curva estándar de Glucosa, para la cuantificación de Almidón y Azúcares Reductores.

Curva estándar de glucosa



Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Tabla A4. Lecturas de absorbancia a 540 nm para la cuantificación de almidón en muestra de uvilla con y sin tutoreo para los tres estados de madurez

7.1.1.1.1 Lectura de absorbancia de azúcares reductores a 540 nm					
SIN TUTOREO		DNS (ABS)		F. de Dilución	Precipitado centrifuga (gr)
verde	0,082	0,070	0,078	1/5	1,32
pintona	0,054	0,048	0,056	1/5	1,21
madura	0,028	0,022	0,030	1/5	1,16
CON TUTOREO		DNS (ABS)		F. de Dilución	Precipitado centrifuga (gr)
verde	0,108	0,106	0,102	1/5	1,48
pintona	0,070	0,074	0,078	1/5	1,25
madura	0,036	0,028	0,028	1/5	1,17

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

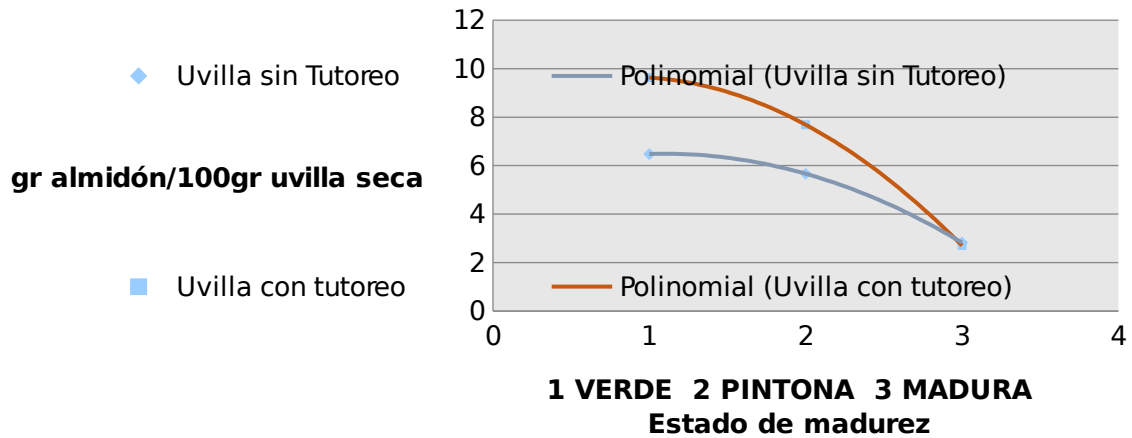
Tabla A5. Contenido de almidón obtenido de uvillas con y sin tutoreo en base seca

SIN TUTOREO		gr de almidón/100 gr uvilla seca			
Estado de Madurez	R1	R2	R3	Promedio±D S	
verde	6,98	5,85	6,61	6,48±0,58	
pintona	5,83	5,08	6,09	5,66±0,52	
madura	3,02	2,13	3,32	2,82±0,62	
CON TUTOREO		gr de almidón/100 gr uvilla seca			
Estado de Madurez	R1	R2	R3	Promedio±D S	
verde	9,90	9,70	9,30	9,63±0,30	
pintona	7,22	7,69	8,15	7,69±0,46	
madura	3,33	2,39	2,39	2,70±0,55	

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Gráfico A2. Cantidad de almidón en uvillas con y sin tutoreo

Presencia de almidón en Uvillas



Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

CUANTIFICACIÓN DE GLUCOSA

Tabla A6. Pesos de los componentes de la solución stock de glucosa

Dilución (1/20) de muestra stock de Glucosa	Volumen μ l	Pesos gr	Suma de Pesos (gr)
Patrón Glucosa	100	0,1042	
Agua	1900	1,9114	2,0156

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Ecuación A1 Concentración de glucosa en la muestra stock diluida

$$\text{Concentracion de glucosa} = \frac{\text{Peso de GLucosa}}{\text{Peso Total de solución}}$$

$$\text{Concentracion de glucosa} = \frac{0,1042 \text{ gr}}{2,0156 \text{ gr}} = 0,0516 \frac{\text{mg}}{\text{gr}} = 0,0516 \frac{\text{mg}}{\text{ml}}$$

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Tabla A7. Lecturas de absorbancia de glucosa para los tres estados de madurez de la uvilla, cultivada con y sin tutoreo

8 LECTURA ABS PARA GLUCOSA A 500 NM					
SIN TUTOREO	R1	R2	R3	F. Dilución	Volumen Rotavapor (ml)
Verde	0,057	0,055	0,052	1/100	4,7
Pintona	0,082	0,085	0,084	1/200	4,9
Madura	0,088	0,086	0,090	1/300	5,1
CON TUTOREO	R1	R2	R3	F. Dilución	Volumen Rotavapor (ml)
Verde	0,043	0,048	0,045	1/150	5,2
Pintona	0,116	0,114	0,114	1/200	4,9
Madura	0,122	0,121	0,122	1/300	5,1

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Tabla A8. Datos para la curva estándar de glucosa

Tubos	Glucosa (μl)	Peso μl glucosa (gr)	Agu a (μl)	Peso total(gr)	ABS
1	0	0	200	0,1983	0
2	100	0,1001	100	0,2084	0,079
3	125	0,1282	75	0,2095	0,101
4	150	0,1552	50	0,2089	0,124
5	175	0,1808	25	0,2116	0,146
6	200	0,2012	0	0,2012	0,165

*La solución madre o stock utilizada contiene 0,05 mg/ml

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Ecuación A2 Cálculo demostrativo de las concentraciones de glucosa para la curva estándar de glucosa

$$\frac{0,05169 \text{ mg Glucosa}}{\text{gr Solución}} \times \frac{0,1001 \text{ gr Solución}}{0,2084 \text{ gr}} = 0,02483 \frac{\text{mg Glucosa}}{\text{gr Solución Estandar}}$$

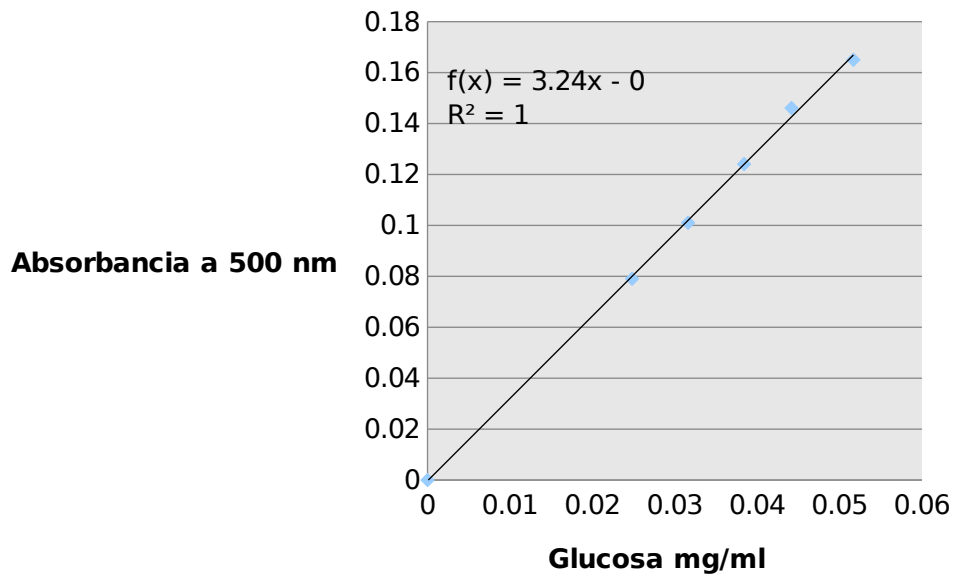
Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Tabla A9. Datos de absorbancia de la curva de calibración en base a pesos de glucosa

Tubos	mg de Glucosa/gr de Sol Estándar	Abs
1	0,0000	0,000
2	0,0248	0,079
3	0,0316	0,101
4	0,0384	0,124
5	0,0442	0,146
6	0,0517	0,165

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Gráfico A3. Curva de calibración de Glucosa en base a pesos



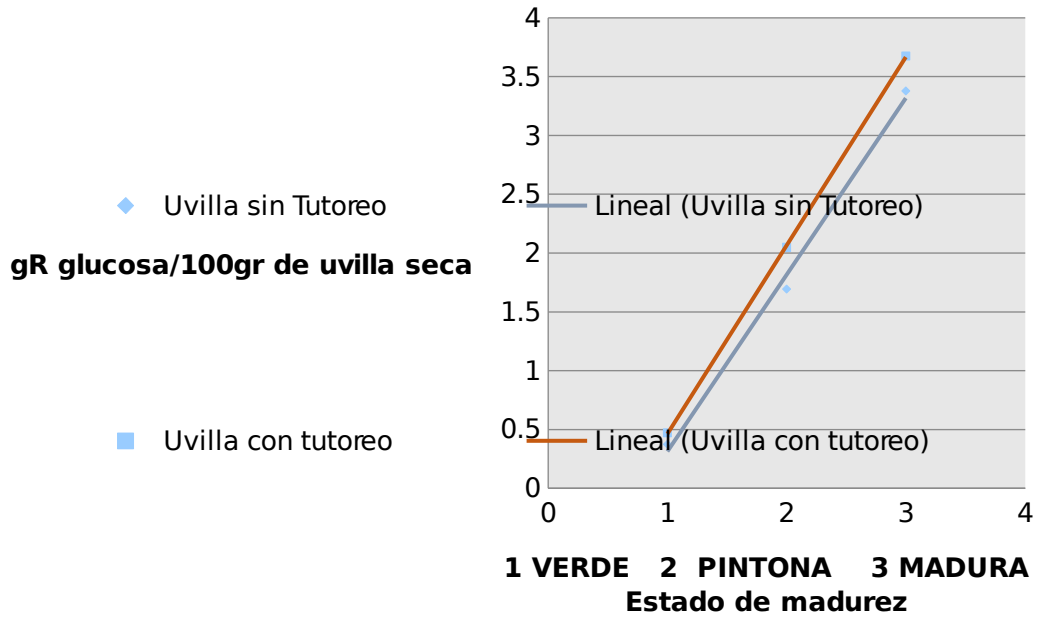
Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Tabla A10. Contenido en gr de glucosa por 100 gr de uvilla seca obtenida de uvillas con y sin tutoreo

SIN TUTOREO	R1	R2	R3	Promedio±DS
Verde	0,39	0,38	0,36	0,375±0,02
Pintona	1,66	1,72	1,70	1,694±0,03
Madura	3,38	3,30	3,45	3,377±0,08
CON TUTOREO	R1	R2	R3	Promedio±DS
Verde	0,45	0,50	0,47	0,472±0,03
Pintona	2,07	2,04	2,03	2,049±0,02
Madura	3,68	3,65	3,68	3,674±0,02

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Gráfico A4. Contenido de glucosa en uvillas con diferentes grados de madurez, cultivadas con y sin tutoreo



Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

CUANTIFICACIÓN DE SACAROSA

Tabla A11. Lecturas de absorbancia de sacarosa a 500 nm para los tres estados de madurez de la uvilla con y sin tutoreo

SIN TUTOREO	R1	R2	R3	F. Dilución
Verde	0,102	0,104	0,096	1 n 50
Pintona	0,125	0,122	0,128	1 n 50
Madura	0,089	0,091	0,087	1 n 100
CON TUTOREO	R1	R2	R3	F. Dilución
Verde	0,164	0,156	0,154	1 n 50
Pintona	0,105	0,103	0,102	1 n 100
Madura	0,087	0,085	0,086	1 n 150

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Tabla A12. Contenido en mg/ml sacarosa y glucosa con y sin tutoreo

SIN TUTOREO	R1	R2	R3	Volumen del Rotavapor (ml)
Verde	9,14	9,32	8,60	4,7
Pintona	11,19	10,93	11,46	4,9
Madura	15,96	16,32	15,61	5,1
CON TUTOREO	R1	R2	R3	Volumen del Rotavapor (ml)
Verde	14,68	13,96	13,78	5,2
Pintona	18,82	18,46	18,29	4,9
Madura	23,41	22,88	23,14	5,1

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

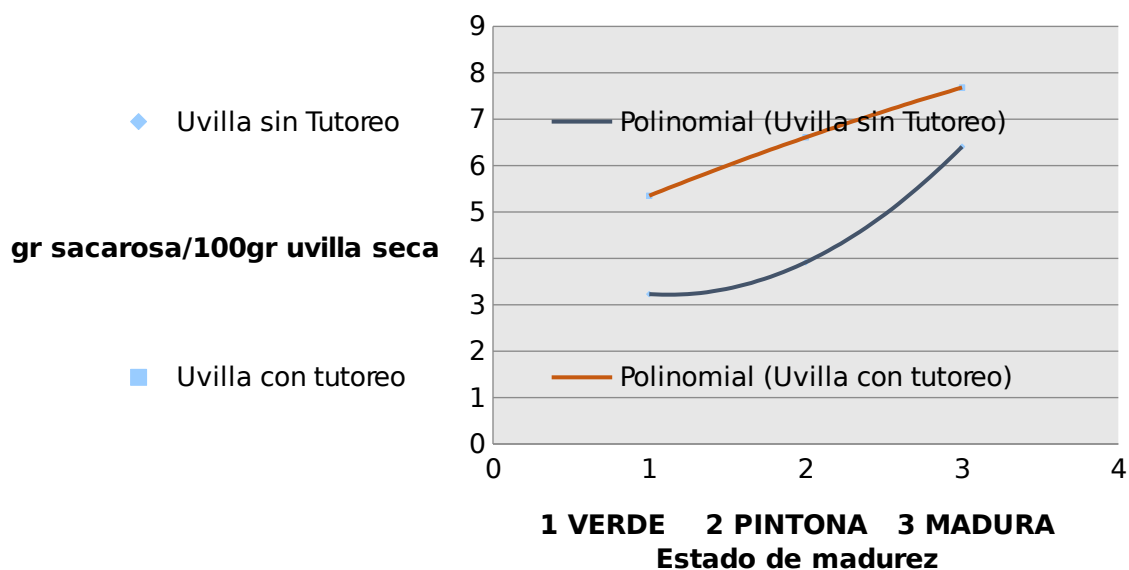
Tabla A13. Contenido en gr sacarosa por 100 gr de uvillas secas con y sin tutoreo

SIN TUTOREO	R1	R2	R3	Promedio±DS
verde	3,25	3,36	3,08	3,23±0,14
pintona	3,98	3,69	4,08	3,92±0,20
madura	6,41	6,85	5,96	6,41±0,45
CON TUTOREO	R1	R2	R3	Promedio±DS
verde	5,64	5,22	5,20	5,35±0,25
pintona	6,74	6,59	6,50	6,61±0,12
madura	7,84	7,55	7,66	7,68±0,14

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Gráfico A5. Cantidad de sacarosa en uvillas con y sin tutoreo

Sacarosa en Uvillas



Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

CUANTIFICACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES

Tabla A14. Lecturas de absorbancia de azúcares reductores a 540 nm para muestras de uvilla con tres estados de madurez cultivadas con y sin tutorio

SIN TUTOREO	R1	R2	R3	F. Dilución
Verde	0,428	0,437	0,434	1/5
Pintona	0,558	0,550	0,554	1/10
Madura	0,525	0,539	0,535	1/15
CON TUTOREO	R1	R2	R3	F. Dilución
Verde	0,661	0,618	0,631	1/5
Pintona	0,780	0,830	0,740	1/10
Madura	0,723	0,714	0,721	1/15

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

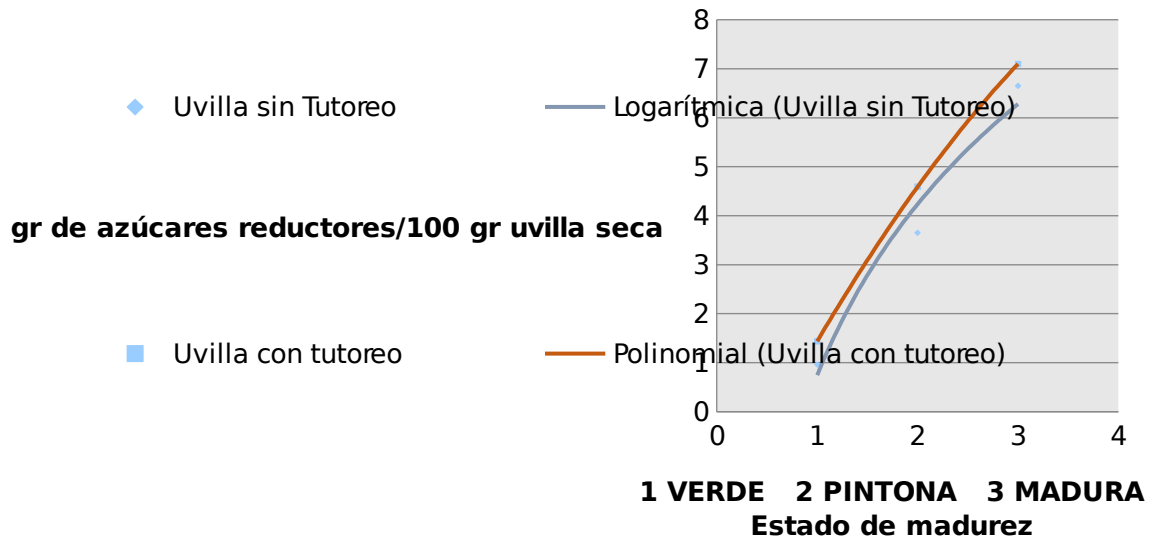
Tabla A15. Cantidad en gr de azúcares reductores por 100 gr de uvilla seca obtenida en uvillas con y sin tutorio

SIN TUTOREO	R1	R2	R3	Promedio±D
				S
Verde	0,95	0,97	0,96	0,96±0,01
Pintona	3,68	3,62	3,65	3,65±0,03
Madura	6,55	6,72	6,68	6,65±0,09
CON TUTOREO	R1	R2	R3	Promedio±D
				S
Verde	1,49	1,39	1,42	1,43±0,05
Pintona	4,57	4,87	4,34	4,59±0,27
Madura	7,14	7,04	7,12	7,10±0,05

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Gráfico A6. Cantidad de azúcares reductores en uvillas con distinto grado de madurez, cultivados con y sin tutoreo

Azúcares reductores



Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

CUANTIFICACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA INVERTASA

Tabla A16. Lecturas de absorbancia a(540 nm) de azúcares reductores generados durante la determinación de actividad de la invertasa para muestras de uvilla, con tres estados de madurez cultivada sin tutoreo

VERDE	R1	R2	R3
Hora 1	0,107	0,105	0,112
Hora 2	0,129	0,131	0,136
Hora 3	0,172	0,169	0,156
Hora 4	0,201	0,204	0,193
PINTONA	R1	R2	R3
Hora 1	0,238	0,235	0,229
Hora 2	0,277	0,284	0,272
Hora 3	0,310	0,315	0,307
Hora 4	0,334	0,341	0,330
MADURA	R1	R2	R3
Hora 1	0,312	0,295	0,328
Hora 2	0,392	0,378	0,405
Hora 3	0,437	0,423	0,467
Hora 4	0,526	0,508	0,538

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Tabla A17. Lecturas de absorbancia a(540 nm) de azúcares reductores generados durante la determinación de actividad de la invertasa para muestras de uvilla, con tres estados de madurez cultivada con tutoreo

VERDE	R1	R2	R3
Hora 1	0,146	0,152	0,154
Hora 2	0,170	0,183	0,188
Hora 3	0,188	0,193	0,204
Hora 4	0,221	0,218	0,234
PINTONA	R1	R2	R3
Hora 1	0,282	0,271	0,288
Hora 2	0,346	0,338	0,345
Hora 3	0,383	0,376	0,379
Hora 4	0,418	0,412	0,421
MADURA	R1	R2	R3
Hora 1	0,422	0,428	0,437
Hora 2	0,488	0,512	0,528
Hora 3	0,602	0,631	0,647
Hora 4	0,675	0,678	0,701

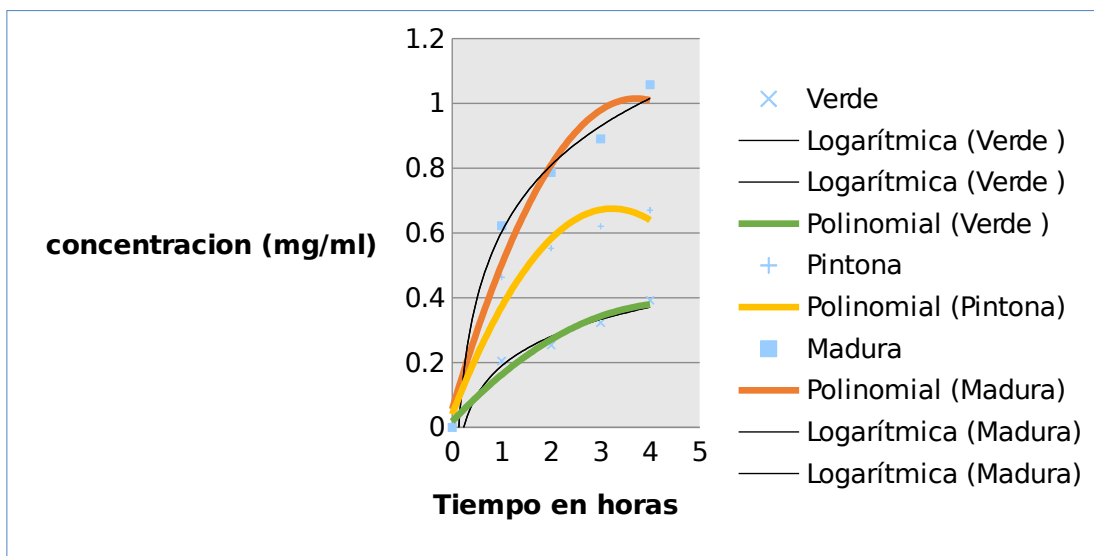
Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Tabla A18. Contenido de azúcares reductores producidos durante la hidrólisis de sacarosa producida por la invertasa para muestras de uvas sin tutoreo con tres estados de madurez expresados en mg/ml de azúcares reductores

VERDE	R1	R2	R3	Promedio±D S
HORA 1	0,20	0,20	0,21	0,21±0,01
HORA 2	0,25	0,25	0,26	0,25±0,01
HORA 3	0,34	0,33	0,30	0,32±0,02
HORA 4	0,40	0,40	0,38	0,39±0,01
PINTONA	R1	R2	R3	Promedio±D S
HORA 1	0,47	0,47	0,45	0,46±0,01
HORA 2	0,55	0,57	0,54	0,55±0,01
HORA 3	0,62	0,63	0,61	0,62±0,01
HORA 4	0,67	0,68	0,66	0,67±0,01
MADURA	R1	R2	R3	Promedio±D S
HORA 1	0,62	0,59	0,66	0,62±0,03
HORA 2	0,79	0,76	0,81	0,79±0,03
HORA 3	0,88	0,85	0,94	0,89±0,05
HORA 4	1,06	1,03	1,09	1,06±0,03

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Gráfico A7. Cinética de formación de producto de la enzima de Uvilla Sin Tutoreo



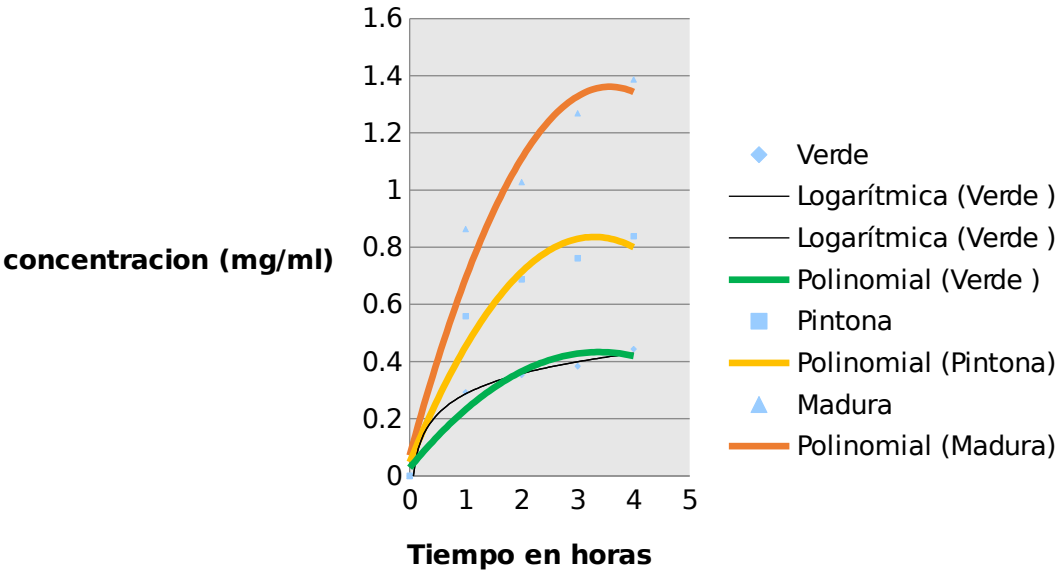
Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Tabla A19. Contenido de azúcares reductores producidos durante la hidrólisis de sacarosa producida por la invertasa para muestras de uvillas con tutoreo con tres estados de madurez expresados en mg/ml de azúcares reductores

VERDE	R1	R2	R3	Promedio±D S
HORA 1	0,28	0,30	0,30	0,29±0,01
HORA 2	0,33	0,36	0,37	0,35±0,02
HORA 3	0,37	0,38	0,40	0,38±0,02
HORA 4	0,44	0,43	0,46	0,44±0,02
PINTONA	R1	R2	R3	Promedio±D S
HORA 1	0,56	0,54	0,57	0,56±0,02
HORA 2	0,69	0,68	0,69	0,69±0,01
HORA 3	0,77	0,75	0,76	0,76±0,01
HORA 4	0,84	0,83	0,85	0,84±0,01
MADURA	R1	R2	R3	Promedio±D S
HORA 1	0,85	0,86	0,88	0,86±0,02
HORA 2	0,98	1,03	1,07	1,03±0,04
HORA 3	1,22	1,28	1,31	1,27±0,05

HORA 4	1,37	1,37	1,42	1,39±0,03
Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014				

Gráfico A8. Cinética de formación de producto de la enzima de Uvilla Con Tutoreo



Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

ANEXO B

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

ANÁLISIS DE ALMIDÓN

Tabla B1. Análisis de varianza del contenido de almidón en muestras de uvilla con diferentes estados de madurez la uvilla, cultivadas con y sin tutoreo

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Estado de madurez	19,8359	2	9,91797	285,50	0,0000*
B:Tutoreo	2,84173	1	2,84173	81,80	0,0000*
INTERACCIONES AB	0,954692	2	0,477346	13,74	0,0008*
RESIDUOS	0,416865	12	0,0347388		
TOTAL (CORREGIDO)	24,0492	17			

Al 95% de nivel confianza

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Tabla B2. TUKEY Prueba de comparación múltiple para el estado de madurez **ESTADO MADUREZ**

Estado de madurez	Casos	Media LS	Grupos Homogéneos
Madura	6	0,965333	A
Pintona	6	2,44417	C
Verde	6	3,5265	B

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Tabla B3. Prueba de comparación múltiple para la aplicación de tutoreo

Tutoreo	Caso	Media LS	Grupos Homogéneos
Sin tutoreo	9	1,91467	A
Con tutoreo	9	2,70933	B

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

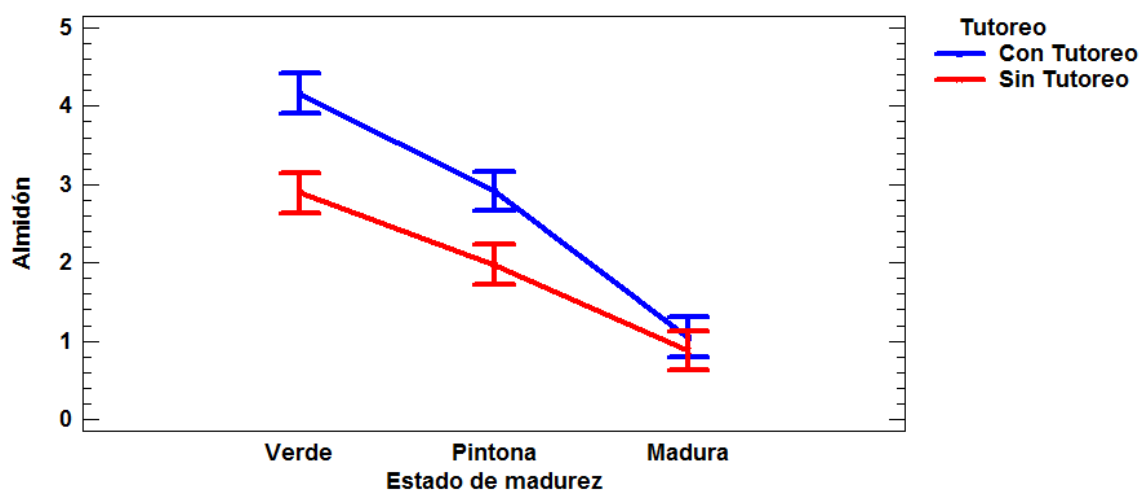
Tabla B4. Prueba de comparación múltiple para el interacción de estado de madurez y aplicación de tutoreo.

Medias ajustadas, error estándar y número de observaciones					
Estado de Madurez	Tutoreo	Medias	n	E.E.	
Madura	Sin tutoreo	0,88	3	0,011	A
Madura	Con tutoreo	1,05	3	0,011	A
Pintona	Sin tutoreo	1,97	3	0,011	B
Verde	Sin tutoreo	2,89	3	0,011	C
Pintona	Con tutoreo	2,91	3	0,011	C
Verde	Con tutoreo	4,16	3	0,011	D

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Gráfico B1. Interacción de estado de madurez y aplicación de tutoreo en el contenido de almidón

Interacciones y 95,0% de Tukey HSD



Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

ANÁLISIS DE GLUCOSA

Tabla B6. Análisis de varianza del contenido de glucosa realizada con muestras de uvilla cultivada con y sin tutoro a los diferentes estados de madurez

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Estado de madurez	1924,27	2	962,135	7663,02	0,0000*
B:Tutoro	154,88	1	154,88	1233,56	0,0000*
INTERACCIONES AB	57,3633	2	28,6817	228,44	0,0000*
RESIDUOS	1,50667	12	0,125556		
TOTAL (CORREGIDO)	2138,02	17			

Al 95% de nivel confianza

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Tabla B7. Prueba de comparación múltiple del contenido de glucosa para el estado de madurez

<i>Estado de madurez</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Verde	6	6,15	A
Pintona	6	19,8	B
Madura	6	31,45	C

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Tabla B8. Prueba de comparación múltiple para análisis de glucosa con y sin tutoro

<i>Tutoro</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Sin tutoro	9	16,2	A
Con tutoro	9	22,0667	B

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

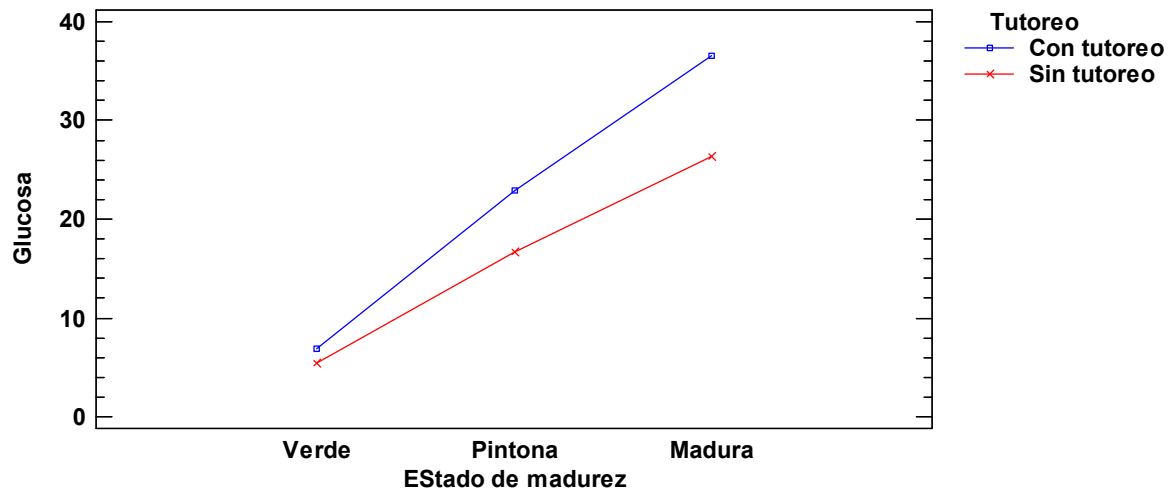
Tabla B9. Prueba de comparación múltiple para la interacción del estado de madurez y aplicación de tutoro.

Medias ajustadas, error estándar y número de observaciones				
Estado de Madurez	Tutoro	Medias	n	E.E.

Verde	Sin tutorio	5,47	3	0,20	A
Verde	Con tutorio	6,83	3	0,20	A
Pintona	Sin tutorio	16,73	3	0,20	B
Pintona	Con tutorio	22,87	3	0,20	C
Madura	Sin tutorio	26,40	3	0,20	C
Madura	Con tutorio	36,50	3	0,20	D

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Gráfico B2. Interacción de estado de madurez y aplicación de tutorio para el contenido de glucosa



Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

ANÁLISIS DE LA CINÉTICA DE FORMACIÓN DE PRODUCTO ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

Tabla B10. Análisis de varianza de la actividad enzimática realizada con extractos obtenidos de muestras de uvilla con diferentes estados de madurez para fruta cultivada con y sin tutoreo

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>G</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tutoreo	0,121936	1	0,121936	982,69	0,0000*
B:Estado de madurez	1,23355	2	0,616777	4970,66	0,0000*
C:Tiempo de actividad de la enzima	0,210304	3	0,0701013	564,95	0,0000*
INTERACCIONES					
AB	0,037942	2	0,018971	152,89	0,0000*
AC	0,00178738	3	0,00059579	4,80	0,0053*
BC	0,0442023	6	0,00736705	59,37	0,0000*
ABC	0,00468708	6	0,00078118	6,30	0,0001*
RESIDUOS	0,005956	48	0,00012408		
TOTAL (CORREGIDO)	1,66037	71			

Al 95% de nivel confianza **Elaborado por:** Vinicio Herrera, 2014

Tabla B11. Pruebas de comparación múltiple de la actividad invertásica para aplicación de tutoreo

Tutoreo	Casos	Media LS	Grupos Homogéneos
Sin	36	0,286	A
Con	36	0,368306	B

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Tabla B12 Prueba de comparación múltiple de actividad invertásica para el estado de madurez

Estado de madurez	Casos	Media LS	Grupos Homogéneos
Verde	24	0,169417	A
Pintona	24	0,322125	B
Madura	24	0,489917	C

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Tabla B13. Prueba de comparación múltiple para el tiempo actividad de la enzima

Tiempo de actividad	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos
----------------------------	--------------	-----------------	-----------------	---------------

de la enzima				Homogéneos
1 hora	18	0,252278	0,00262555	A
2 hora	18	0,305667	0,00262555	B
3 hora	18	0,353278	0,00262555	C
4 hora	18	0,397389	0,00262555	D

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Tabla B14 Prueba de comparación múltiple para interacción de aplicación de tutorio y estado de madurez

Tutorio	Estado de Madurez	Medias	N	E.E.	
Sin Tutorio	Verde	0,15	12	3,2 E-03	A
Con Tutorio	Verde	0,19	12	3,2 E-03	B
Sin Tutorio	Pintona	0,29	12	3,2 E-03	C
Con Tutorio	Pintona	0,35	12	3,2 E-03	D
Sin Tutorio	Madura	0,42	12	3,2 E-03	E
Con Tutorio	Madura	0,56	12	3,2 E-03	F

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Tabla B15 Prueba de comparación múltiple para interacción la aplicación de tutorio y tiempo de la actividad enzimática

Tutorio	Tiempo de la actividad de enzima	Medias	n	E.E.	
Sin Tutorio	1 hora	0,22	9	3,7 E-03	A
Sin Tutorio	2 hora	0,27	9	3,7 E-03	B
Con Tutorio	1 hora	0,29	9	3,7 E-03	C
Sin Tutorio	3 hora	0,31	9	3,7 E-03	D
Con Tutorio	2 hora	0,34	9	3,7 E-03	E
Sin Tutorio	4 hora	0,35	9	3,7 E-03	E
Con Tutorio	3 hora	0,40	9	3,7 E-03	F
Con Tutorio	4 hora	0,44	9	3,7 E-03	G

Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Tabla B16 Prueba de comparación múltiple para interacción del estado de madurez y tiempo de la actividad de enzima

Estado de madurez	Tiempo de la actividad de enzima	Medias	n	E.E.	
Verde	1 hora	0,13	6	4,5 E-03	A
Verde	2 hora	0,16	6	4,5 E-03	B
Verde	3 hora	0,18	6	4,5 E-03	C
Verde	4 hora	0,21	6	4,5 E-03	D
Pintona	1 hora	0,26	6	4,5 E-03	E
Pintona	2 hora	0,31	6	4,5 E-03	F
Pintona	3 hora	0,35	6	4,5 E-03	G
Madura	1 hora	0,37	6	4,5 E-03	H
Pintona	4 hora	0,38	6	4,5 E-03	H
Madura	2 hora	0,45	6	4,5 E-03	I
Madura	3 hora	0,53	6	4,5 E-03	J
Madura	4 hora	0,60	6	4,5 E-03	K

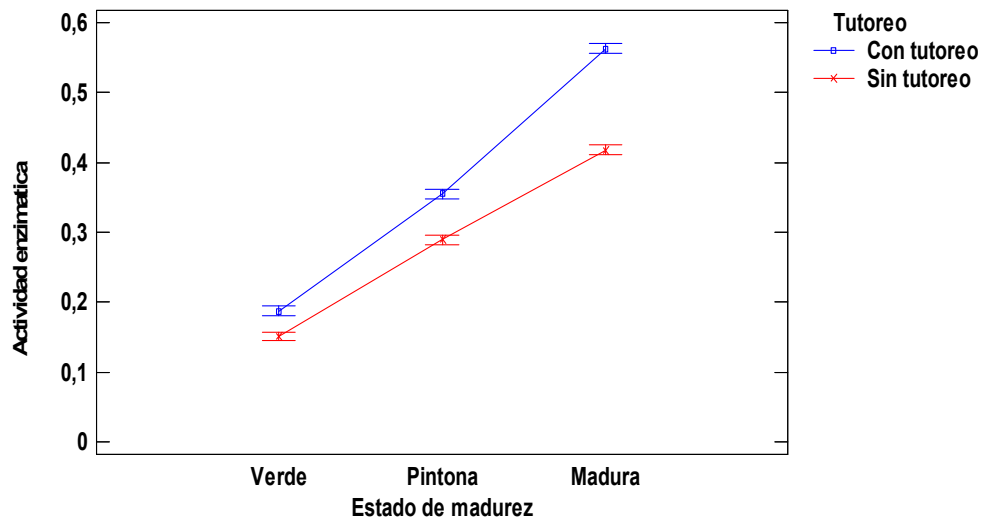
Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Tabla B17. Prueba de comparación múltiple para la interacción de aplicación de tutorio, estado de madurez y tiempo de actividad de la enzima

Tutorio	Estado de madurez	Tiempo de actividad de enzima	Medias	n	E.E.	
Sin tutorio	Verde	1 hora	0,11	3	0,01	A
Sin tutorio	Verde	2 hora	0,13	3	0,01	AB
Con tutorio	Verde	1 hora	0,15	3	0,01	BC
Sin tutorio	Verde	3 hora	0,17	3	0,01	BCD
Con tutorio	Verde	2 hora	0,18	3	0,01	CD
Con tutorio	Verde	3 hora	0,20	3	0,01	DE
Sin tutorio	Verde	4 hora	0,20	3	0,01	DEF
Con tutorio	Verde	4 hora	0,22	3	0,01	EF
Sin tutorio	Pintona	1 hora	0,23	3	0,01	F
Sin tutorio	Pintona	2 hora	0,28	3	0,01	G
Con tutorio	Pintona	1 hora	0,28	3	0,01	G
Sin tutorio	Pintona	3 hora	0,31	3	0,01	GH
Sin tutorio	Madura	1 hora	0,31	3	0,01	GH
Sin tutorio	Pintona	4 hora	0,34	3	0,01	H
Con tutorio	Pintona	2 hora	0,34	3	0,01	H
Con tutorio	Pintona	3 hora	0,36	3	0,01	I
Sin tutorio	Madura	2 hora	0,39	3	0,01	IJ
Con tutorio	Pintona	4 hora	0,42	3	0,01	JK
Con tutorio	Madura	1 hora	0,43	3	0,01	K
Sin tutorio	Madura	3 hora	0,44	3	0,01	K
Con tutorio	Madura	2 hora	0,51	3	0,01	L
Sin tutorio	Madura	4 hora	0,52	3	0,01	L
Con tutorio	Madura	3 hora	0,63	3	0,01	M
Con tutorio	Madura	4 hora	0,68	3	0,01	N

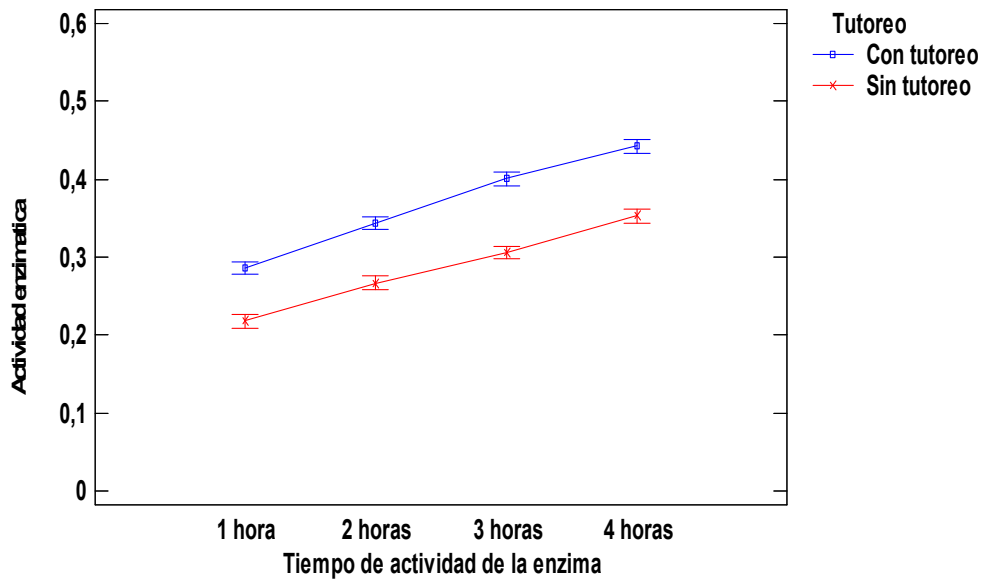
Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Gráfico B3. Interacción del estado madurez y aplicación de tutorio de la enzima



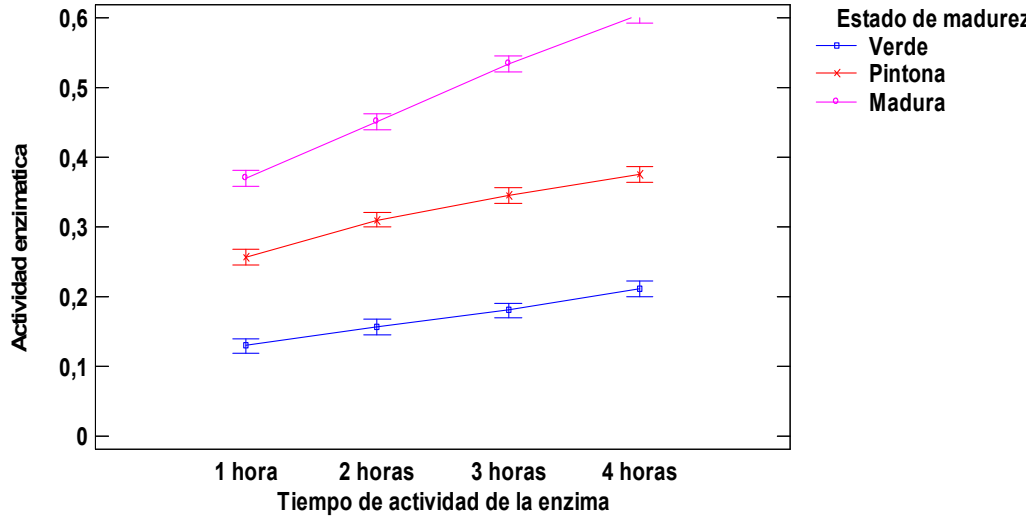
Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Gráfico B4. Interacción del tutorio y tiempo de actividad de la enzima



Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Gráfico B5. Interacción del estado madurez y tiempo de actividad de la enzima

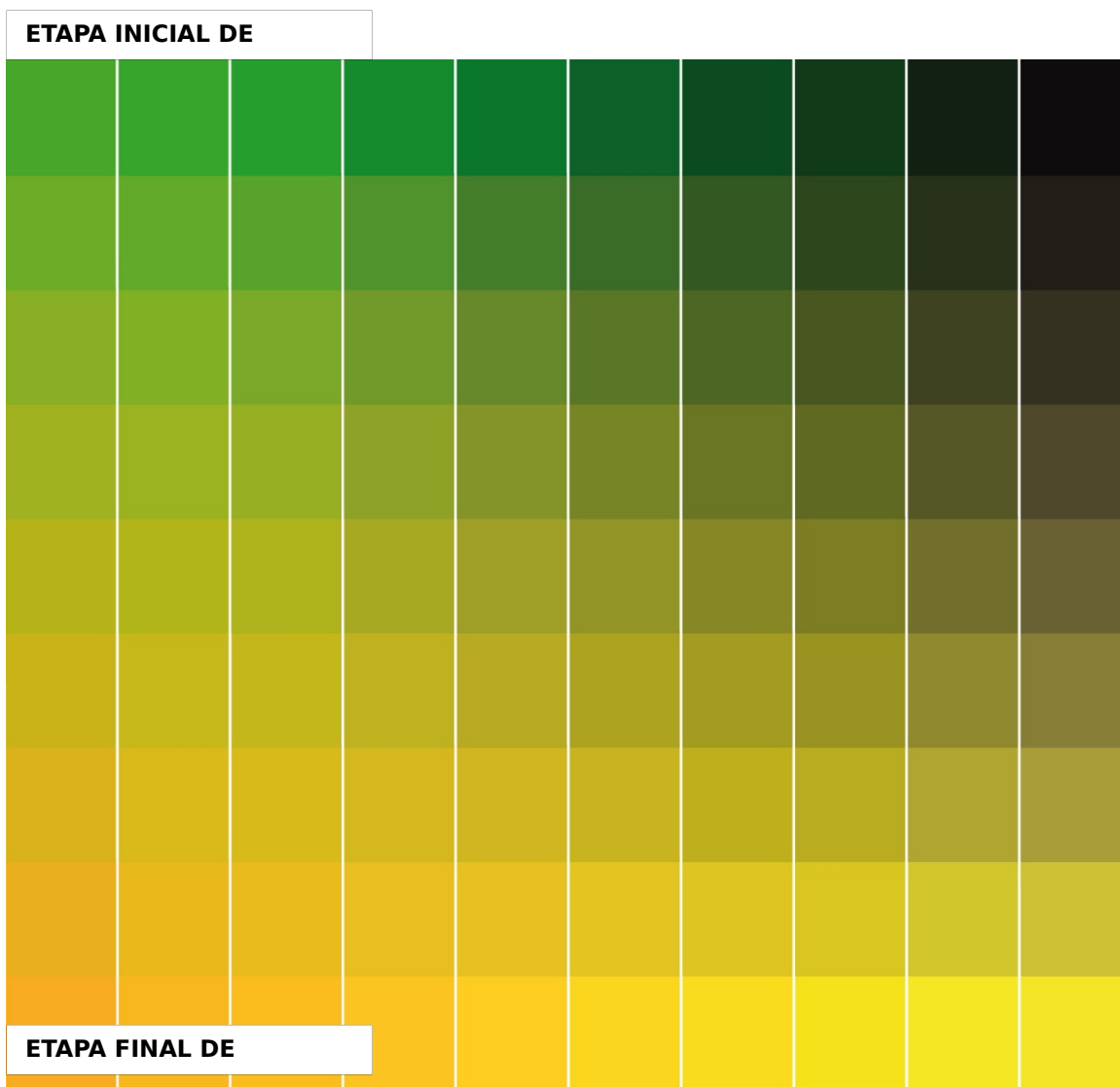


Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

ANEXO C

FOTOGRAFÍAS

Imagen C1. Cuadro de color en la maduración de la uvilla (Physalis peruviana)



Fuente: Teoría del color, 2014
Elaborado por: Vinicio Herrera, 2014

Fotografía C1: Uvillas (*Physalis peruviana*) verde sin tutoreo)



Fotografía C2: Uvillas (*Physalis peruviana*) verde con tutoreo)



Fotografía C3: Uvillas (*Physalis peruviana*) pintona sin tutoreo)



Fotografía C4: Uvillas (*Physalis peruviana*) pintona con tutoreo



Fotografía C5: Uvillas (*Physalis peruviana*) madura sin tutoreo



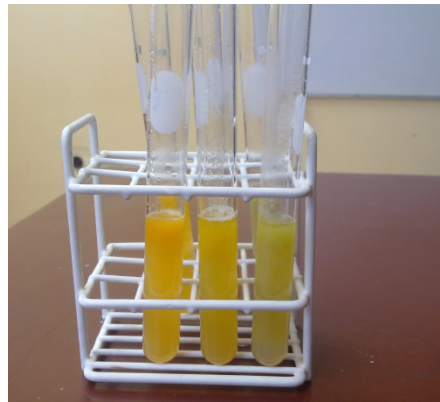
Fotografía C6: Uvillas (*Physalis peruviana*) madura con tutoreo



Fotografía C7: Prevaricación de muestra de uvillas



Fotografía C7: Muestra de uvillas para análisis de azúcares y almidón sin tutoreo



Fotografía C8: Muestra de uvillas para análisis de azúcares y almidón con tutoreo



Fotografía C9: Centrifuga con muestra de uvillas para análisis de almidón y azúcares



Fotografía C10: Liberación de etanol de muestras para análisis de azúcares



Fotografía C11: Preparación para análisis de glucosa



Fotografía C12: Muestras para análisis de glucosa

