UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

Tema: Análisis de la capacidad antifúngica de polifenoles microencapsulados obtenidos a partir de orujo uva (*Vitis vinífera* l.) frente a *Botrytis* spp.. y *Fusarium* spp.

Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del Título de Ingeniera Biotecnóloga, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Myriam Rocío Pilatasig Tibán.

Tutor: Dr. Orestes Darío López Hernández.

Ambato – Ecuador

Julio – 2026

APROBACIÓN DEL TUTOR

Dr. Orestes Darío López Hernández.

CERTIFICA:

Que el presente Informe Final del Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 04 de junio de 2026

Validar únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
ORESTES DARIO LOPEZ HERNANDEZ

Dr. Orestes Darío López Hernández.

17XXXXXX64

TUTOR

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Myriam Rocío Pilatasig Tibán, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera Biotecnóloga son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



Myriam Rocío Pilatasig Tibán

18XXXXXX83

AUTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga uso de este Informe Final del Trabajo de Titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final de Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Myriam Rocío Pilatasig Tibán

18XXXXXX33

AUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

Validar únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
ESTEBAN MAURICIO FUENTES PEREZ

_____

Presidente del Tribunal

Validar únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
MANOELLA ALEJANDRA SANCHEZ GARNICA

_____

Mg. Manoella Alejandra Sánchez Garnica

06XXXXXX71

Validar únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
HELENA MARITZA DE LA TORRE OLVERA

_____

Dra. Helena Maritza De La Torre Olvera

13XXXXXX98

Ambato, 19 de junio de 2026

DEDICATORIA

Dedico el resultado de mi esfuerzo y perseverancia a mi familia, en especial a mis padres Gladys Tibán y Carlos Pilatasig, que siempre me han apoyado desde los primeros pasos de la carrera, hasta los últimos días de mi vida universitaria. Sus consejos han sido acogidos con mucho amor y el fruto de su esfuerzo se refleja en este título. A mis hermanas; Paola, Karla y Kerly Pilatasig, que, con su carisma y optimismo, siempre me han apoyado con una sonrisa y palabras de motivación. Asimismo, a mis abuelitos, tíos y vecinos cercanos, que me han aconsejado con sabiduría.

Por último, a mi persona, que después de noches sin dormir y días en llantos, al no comprender algunas materias, me he levantado y he perseguido mis sueños hasta alcanzarlos. Hoy regreso al pasado, revivo recuerdos y admiro el camino recorrido. Vuelvo al pasado y digo: soy una persona perseverante, dedicada y con ganas de seguir adquiriendo conocimientos, por tal motivo, este no será el primero ni el último mérito adquirido.

AGRADECIMIENTO

Agradezco este logro a Dios por haberme dado salud y vida para culminar victoriosamente una meta más en mi vida; gracias por ser mi fortaleza espiritual, mi guía y mi compañía permanente en cada amanecer. Gracias por rodear mi mundo de personas sinceras, honestas y de inestimable valor, asesores excepcionales que han sabido guiar mi camino en los momentos alegres, pero sobre todo en los difíciles. Gracias a mis angelitos caídos del cielo por llegar en los días tempestuosos donde creía no poder; sus sabias palabras me impulsaron a trasformar la niña que siempre soñé: ¨una profesional con ganas de actuar por el bien común¨.

Agradezco inmensamente a mis padres, Carlos Pilatasig y Gladys Tibán, los dos tesoros más preciados que Dios me ha dado. Gracias por haberme dado la vida y permitirme ser su reflejo de vida. Sus valores y consejos me han impulsado a seguir adelante, a nunca rendirme, a ser una persona humilde, responsable, honesta y sobre todo perseverante. Actualmente su niña, su princesa, ha crecido y junto con ella las ganas de crecer personal y profesionalmente. Siempre actuaré a su nombre porque sin su apoyo moral, sin sus experiencias de vida y sin su apoyo económico no hubiera obtenido la herencia más valiosa del mundo: ¨el conocimiento¨. Asimismo, agradezco a mis hermanas: Paola, Karla y Kerly Pilatasig, por motivarme y permitirme ser su ejemplo.

Finalmente, aplaudo mi perseverancia y constancia durante mi vida universitaria, ha sido un camino con recorridos difíciles, de noches en llanto y días sin dormir, pero al final del camino no ha sido imposible de recorrer. Gracias a los docentes universitarios que han sido mis guías y me han formado profesionalmente, en especial al Dr. Orestes López, quien supo guiarme en todo el desarrollo del proyecto de tesis. Además, agradezco a los administradores de los Laboratorios de Investigación: Karla Peñafiel y Giovanny Freire, quienes con su experiencia profesional me han tenido paciencia y han compartido sus conocimientos con toda voluntad.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN iii
DERECHOS DE AUTOR iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO v
DEDICATORIA vi
AGRADECIMIENTO vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS viii
ÍNDICE DE TABLAS xii
ÍNDICE DE FIGURAS xiii
ÍNDICE DE ECUACIONES xiv
ÍNDICE DE ANEXOS xv
RESUMEN EJECUTIVO xvi
ABSTRACT xvii
CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO 1
1.1 Antecedentes Investigativos. 1
1.1.1 Justificación del problema. 1
1.1.2 Orujo de uva como subproducto de interés biotecnológico. 2
1.1.2.1 Usos de la uva. 2
1.1.2.2 Residuos agroindustriales de uva en Ecuador. 2
1.1.2.3 Definición de orujo de uva. 3
1.1.2.4 Composición física y química del orujo de uva. 3
1.1.3 Compuestos polifenólicos. 3
1.1.3.1 Definición de compuestos polifenólicos. 3
1.1.3.2 Clasificación de polifenoles. 4
1.1.3.3 Estructura química de polifenoles. 5
1.1.3.4 Propiedades fisicoquímicas de polifenoles. 5
1.1.4 Métodos de extracción de compuestos bioactivos. 6
1.1.4.1 Tipos de métodos de extracción. 6
1.1.4.2 Ventajas y desventajas de los métodos de extracción. 7
1.1.4.3 Factores que afectan el rendimiento de extracción. 9
1.1.5 Generalidades de cuantificación de polifenoles. 9
1.1.5.1 Métodos de cuantificación de polifenoles. 9
1.1.5.2 Ventajas y limitaciones de los métodos de cuantificación de polifenoles. 10
1.1.6 Microencapsulación. 11
1.1.6.1 Definición de microencapsulación. 11
1.1.6.2 Métodos de microencapsulación. 11

1.1.6.3 Materiales de pared (Encapsulantes). 12
1.1.6.4 Importancia de microencapsulación. 13
1.1.6.5 Aspectos críticos del proceso de microencapsulación. 13
1.1.7 Principales enfermedades fúngicas que afectan al tomate riñón. 13
1.1.7.1 Presencia e impacto de *Botrytis* spp. y *Fusarium* spp., en tomate riñón. 13
1.1.7.1.1 *Fusarium* spp. 13
1.1.7.1.2 *Botrytis* spp. 14
1.1.7.2 Pérdidas productivas y poscosecha de *Solanum lycopersicum* L. 14
1.1.8 Métodos convencionales para controlar fitopatógenos vegetales y sustituir el control químico. 14
1.1.9 Generalidades de la evaluación antifúngica *in vitro.* 15
1.1.9.1 Definición actividad antifúngica. 15
1.1.9.2 Actividad antifúngica de polifenoles. 15
1.1.9.3 Mecanismos de acción antifúngica de polifenoles. 15
1.1.10. Métodos de evaluación de la actividad antifúngica *in vitro*. 16
1.1.10.1 Dilución en caldo. 16
1.1.10.2 Difusión en disco de agar. 16
1.1.10.3 Difusión en agar con pocillos. 16
1.1.10.4 Difusión en tapón de agar. 16
1.1.10.5 Método de los alimentos envenenados. 16
1.1.10.6 Método de macrodilución en caldo. 17
1.1.10.7 Método de microdilución en caldo. 17
1.2 Objetivos 17
1.2.1 Objetivo general 17
1.2.2 Objetivos Específicos 17
CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA 17
2.1 Materiales 17
2.2 Métodos. 20
2.2.1 Determinación del contenido de polifenoles del extracto obtenido a partir de orujo de *Vitis vinifera* L., mediante el ensayo colorimétrico Folin–Ciocalteu. 20
2.2.1.1 Obtención del material vegetal. 20
2.2.1.2 Preparación del material vegetal 20
2.2.1.3 Extracción de polifenoles en soluciones Etanol – Agua 20
2.2.1.4 Determinación del contenido de polifenoles totales 20
2.2.1.5 Determinación de sólidos totales 21
2.2.1.6 Diseño experimental 21
2.2.2 Desarrollo de un micro encapsulado de polifenoles de *Vitis vinifera* L., mediante secado por aspersión. 22
2.2.2.1 Preparación de soluciones 22

2.2.2.2 Microencapsulación de polifenoles por secado por aspersión. 22
2.2.2.3 Eficiencia cualitativa de microencapsulación por FTIR. 22
2.2.2.4 Eficiencia cuantitativa de microencapsulación 23
2.2.3 Evaluación de la actividad antifúngica *in vitro* de los polifenoles microencapsulados de orujo de uva frente a *Botrytis* spp. y *Fusarium* spp. 23
2.2.3.1 Área de investigación y muestreo 23
2.2.3.2 Aislamiento y purificación de fitopatógenos del tomate riñón. 24
2.2.3.2.1 Aislamiento y purificación de *Botrytis* spp. y *Fusarium* spp. 24
2.2.3.2.2 Identificación morfológica de fitopatógenos de tomate riñón 24
2.2.3.3 Pruebas *in vitro* del antagonismo de micro encapsulados de polifenoles de orujo de uva frente a *Botrytis* spp., y *Fusarium* spp. 24
2.2.3.3.1 Colocación de discos 24
2.2.3.3.2 Tratamientos experimentales. 24
2.2.3.4 Prueba de inhibición del crecimiento micelial 25
2.2.3.5 Diseño experimental de la actividad antifúngica. 26
2.2.3.6 Delimitación de variables e hipótesis. 27
CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN 27
3.1 Análisis y discusión de los resultados 27
3.1.1 Determinación del contenido de polifenoles del extracto obtenido a partir de orujo de *Vitis vinifera* L., mediante el ensayo colorimétrico Folin–Ciocalteu. 27
3.1.1.1 Extracción y cuantificación de polifenoles con solución agua – etanol. 27
3.1.1.2 Diseño experimental 3^2 29
3.1.1.3 Determinación de sólidos totales. 33
3.1.1.3.1 Sólidos totales del polvo de orujo de uva. 33
3.1.1.3.2 Sólidos totales del extracto concentrado de polifenoles de orujo de uva para microencapsular. 33
3.1.2 Desarrollo de un microencapsulado de polifenoles de *Vitis vinifera* L., mediante secado por aspersión. 34
3.1.2.1 Caracterización del extracto antes del secado. 34
3.1.2.2 Análisis cuantitativo de microencapsulación de polifenoles de orujo de uva. 34
3.1.2.3 Análisis cualitativo de microencapsulación de polifenoles de orujo de uva por espectroscopia infrarroja (FTIR). 36
3.1.3 Evaluación de la actividad antifúngica *in vitro* de los polifenoles micro encapsulados de orujo de uva frente a *Botrytis* spp. y *Fusarium* spp. 41
3.1.3.1 Aislamiento y purificación de fitopatógenos de tomate de riñón. 41
3.1.3.2 Pruebas *in vitro* del antagonismo de micro encapsulados de polifenoles de orujo de uva frente a *Botrytis* spp., y *Fusarium* spp. 43
3.1.3.2.1 Análisis de inhibición antifúngica dada por la prueba de sensibilidad con discos en papel, escala de Duraffourd. 43

3.1.3.3 Verificación de hipótesis..... 49
CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 49
4.1 Conclusiones 49
4.2 Recomendaciones..... 49
Referencias Bibliográficas 50
ANEXOS 55

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Usos de *Vitis vinífera* L., en el mundo. 2
Tabla 2. Composición física y química del orujo de uva. 3
Tabla 3. Clasificación de polifenoles. 4
Tabla 4. Generalidades de las propiedades fisicoquímicas de polifenoles. 5
Tabla 5.Métodos de extracción de compuestos bioactivos. 6
Tabla 6.Ventajas y desventajas de los métodos de extracción modernas y convencionales.8
Tabla 7.Ventajas y desventajas de los métodos de cuantificación de compuestos bioactivos. 10
Tabla 8.Métodos de microencapsulación. 11
Tabla 9.Materiales, reactivos y equipos necesarios para la fase experimental del proyecto de investigación. 18
Tabla 10.Tratamientos para el proceso de extracción de polifenoles. 21
Tabla 11.Tratamientos para *Fusarium spp.* 25
Tabla 12.Tratamientos para Botrytis spp. 25
Tabla 13.Escala de Duraffourd. 26
Tabla 14.Diseño factorial AxB. 26
Tabla 15.Diseño Factorial 3^2, aplicado en la extracción de polifenoles. 30
Tabla 16.Análisis de Varianza para Polifenoles. 30
Tabla 17.Optimización de respuesta. 32
Tabla 18.Porcentaje de sólidos totales del polvo de orujo de uva. 33
Tabla 19.Porcentaje de sólidos totales del extracto líquido de orujo de uva concentrado.34
Tabla 20.Eficiencia y rendimiento de microencapsulación maltodextrina. 34
Tabla 21.Eficiencia y rendimiento de microencapsulación Maltodextrina + Goma arábiga.35
Tabla 22.Bandas FTIR relacionadas con grupos funcionales presentes en la matriz del orujo de uva. 36
Tabla 23.Prueba de evaluación antifúngica en base a la Escala de Duraffourd para *Fusarium* spp.y *Botrytis* spp. 46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.Estudios previos del efecto antifúngico de polifenoles entre el año 2014 – 2024.15
Figura 2.Curva de calibración del ácido gálico. 27
Figura 3.Análisis estadístico para seleccionar el mejor disolvente de extracción de polifenoles. 28
Figura 4.Análisis estadístico. Diseño Factorial Unifactorial. 29
Figura 5.Diagrama de Pareto estandarizado para Polifenoles. 31
Figura 6.Superficie de respuesta estimada. 32
Figura 7.Espectrometría infrarroja del extracto orujo de uva concentrado. 36
Figura 8.Espectrometría infrarroja de los agentes encapsulantes y las microesferas de MD y MDGA de orujo de uva. 38
Figura 9.Espectrometría infrarroja del orujo de uva superpuesto con los agentes encapsulantes. 40
Figura 10.Aislamiento y purificación de Fusarium spp. de tomate de riñón. 41
Figura 11.Aislamiento y purificación de Botrytis spp. de tomate de riñón. 42
Figura 12.Prueba de difusión en disco para determinar la actividad antifúngica de polifenoles de orujo de uva frente a Fusarium spp. 43
Figura 13.Prueba de difusión en disco para determinar la actividad antifúngica de polifenoles de orujo de uva frente a Botrytis spp. 45
Figura 14.Diseño factorial AxB. 47
Figura 15.Diagramas del diseño factorial AxB. 47

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Cálculo del efecto Inhibitorio por el método de alimentos envenenados. 16
Ecuación 2. Cálculo del porcentaje de inhibición por el método de microdilución en caldo. 17
Ecuación 3. Ecuación de la recta de la curva de calibración del ácido gálico. 21
Ecuación 4. Cálculo del contenido fenólico total. 21
Ecuación 5. Cálculo para la determinación de sólidos totales. 21
Ecuación 6. Cálculo para el porcentaje de Eficiencia de microencapsulación..... 23
Ecuación 7. Cálculo para el porcentaje de rendimiento de microencapsulación. 23

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Clasificación de polifenoles. 55
Anexo 2.Estructura de polifenoles. 55
Anexo 3.Estructura química de polifenoles con actividad antifúngica, antibacteriana y antiviral. 56
Anexo 4. Obtención de la materia prima. Orujo de uva. 56
Anexo 5. Cuantificación de polifenoles. 57
Anexo 6.Preparación de emulsiones para la microencapsulación. 57
Anexo 7.Microencapsulación de polifenoles. 57
Anexo 8. Toma de muestras de tejidos infectados con *Fusarium* spp. y *Botrytis* spp..... 58
Anexo. 9. Aislamiento de *Fusarium* spp. y *Botrytis* spp. 58
Anexo 10. Identificación microscópica de *Fusarium* spp. y *Botrytis* spp. 59

RESUMEN EJECUTIVO

La generación de residuos vitivinícolas como; el orujo de uva (Vitis vinifera L.), muestra un problema ambiental por su elevada carga orgánica y limitada valorización industrial. Asimismo, el control de fitopatógenos vegetales como Botrytis spp. y Fusarium spp., depende de fungicidas sintéticos y su uso prolongado ha generado resistencia fúngica y efectos adversos sobre el ambiente. En este contexto, se busca revalorizar el orujo de uva a través de la aplicación de la biotecnología, al aprovechar compuestos bioactivos: como los polifenoles, que tienen capacidad antifúngica, antioxidante, antiinflamatoria, etc. La obtención de polifenoles se realizó por el método de extracción sólido – líquido, utilizando diferentes concentraciones de etanol – agua y la cuantificación del contenido fenólico total mediante el método Folin–Ciocalteu. El etanol al 96 por ciento, presentó la mayor eficiencia extractiva. En la microencapsulación, la maltodextrina mostró mejores resultados de rendimiento y eficiencia, en contraste con combinación maltodextrina–goma arábiga. El análisis FTIR se confirmó la presencia de grupos funcionales característicos de compuestos fenólicos e interacciones entre el extracto y la matriz encapsulante. En la evaluación antifúngica in vitro se reveló la actividad inhibitoria de polifenoles microencapsulados de uva frente a Botrytis spp., observándose halos crecientes conforme aumentó la concentración de polifenoles, mientras que *Fusarium* spp. no presentó sensibilidad bajo las condiciones ensayadas. En conclusión, los polifenoles microencapsulados del orujo de uva constituyen una alternativa prometedora para el control biológico de *Botrytis* spp. A futuro, este estudio podría contribuir al desarrollo de biofungicidas ecológicos y la valorización biotecnológica de residuos agroindustriales.

Palabras clave: orujo de uva; polifenoles; microencapsulación; actividad antifúngica, fitopatógenos vegetales.

ABSTRACT

The generation of wine-related waste, such as grape pomace (Vitis vinifera L.), presents an environmental problem due to its high organic load and limited industrial valorization. Furthermore, the control of plant pathogens like Botrytis spp. and Fusarium spp. relies on synthetic fungicides, and their prolonged use has led to fungal resistance and adverse environmental effects. In this context, this project seeks to add value to grape pomace through the application of biotechnology, by utilizing bioactive compounds such as polyphenols, which possess antifungal, antioxidant, and anti-inflammatory properties, among others. Polyphenols were obtained using a solid-liquid extraction method with different concentrations of ethanol and water, and the total phenolic content was quantified using the Folin-Ciocalteu method. Ethanol at 96 percent showed the highest extraction efficiency. In microencapsulation, maltodextrin showed better performance and efficiency results compared to the maltodextrin-gum arabic combination. FTIR analysis confirmed the presence of functional groups characteristic of phenolic compounds and interactions between the extract and the encapsulating matrix. In vitro antifungal evaluation revealed the inhibitory activity of microencapsulated grape pomace polyphenols against Botrytis spp., with increasing halos observed as the polyphenol concentration increased, while Fusarium spp. showed no sensitivity under the tested conditions. In conclusion, microencapsulated grape pomace polyphenols represent a promising alternative for the biological control of Botrytis spp. This study could contribute to the development of environmentally friendly biofungicides and the biotechnological valorization of agro-industrial waste.

Keywords: grape pomace; polyphenols; microencapsulation; antifungal activity, plant phytopathogens.

CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes Investigativos.

1.1.1 Justificación del problema.

Hace 10.000 años las plagas vegetales se sometían a tratamientos orgánicos como; abonos, bio efectores y bio estimulantes, actualmente, estos métodos han sido vulnerables a varias enfermedades agrarias. **Khursheeed et al. (2022)**, la producción agrícola mundial se ha visto afectada por plagas que causan el 40% de pérdidas, lo que provoca un descenso económico de 220.000 millones de dólares anuales. Frente a la vulnerabilidad del uso de métodos orgánicos se adoptó con mayor frecuencia la aplicación de pesticidas químicos debido a su alta eficiencia. En contraste, su aplicación provoca efectos nocivos en suelos agrícolas, plantas no objetivo, medio ambiente, salud humana, animales y recursos hídricos, lo que genera inquietud. **Khursheeed et al. (2022),** existe una creciente preocupación por la resistencia de las plagas frente a los pesticidas sintéticos por lo que se ha empezado a rotar principios activos.

Rani et al. (2021), el uso excesivo e inapropiado de pesticidas desencadena en conflictos sociales y afecta principalmente a trabajadores agrícolas. **Sabarwal et al. (2022)**, la forma de contacto con el ser humano se da por medio de la piel, debido a la preparación del pesticida y a fugas durante su aplicación. Como consecuencia, genera enfermedades como; trastornos respiratorios y reproductivos, cáncer, disfunción neurológica, diabetes, etc. **Hassaan & El-Nemr (2021)**, alrededor de 1 000 000 de seres humanos han tenido una intoxicación aguda. Las tasas de mortalidad anuales han sido de 0,4% y 1,9%. Se estima que estas muertes podrían ser en un 70%, debido al contacto con pesticidas.

Considerando los efectos dañinos de los pesticidas sintéticos, surge la necesidad de buscar una estrategia inmediata para combatir las plagas agrícolas y minimizar el uso de insumos agrícolas que causen efectos secundarios a corto y largo plazo. **Khursheeed et al. (2022)**, trabajar con biopesticidas es una alternativa viable para reducir los riesgos causados por agentes químicos y podrían mejorar elocuentemente los resultados agrícolas. **Batool et al. (2024)**, la principal fuente de productos bioactivos naturales son las plantas, destacando los metabolitos primarios y secundarios que participan en la defensa de plantas contra a fitopatógenos e insectos. Además, los residuos naturales pueden ser aprovechados como economía circular para crear productos agrícolas eco amigables y combatir patógenos vegetales. Sin embargo, debido a la falta de estudios y técnicas de liberación controlada del ingrediente activo, se ha limitado su formulación y aplicación.

Ríos & Gil (2021), la microencapsulación, es un método viable para recuperar propiedades significativas de los metabolitos secundarios, porque ofrece estabilidad, solubilidad y liberación controlada frente a agentes fitopatógenos. En el presente estudio se microencapsulará los polifenoles de orujo de uva para evaluar su capacidad antifúngica frente a *Botrytis* spp., y *Fusarium* spp¨, con la

finalidad de aportar un método biotecnológico ecológico al sector agrícola, reducir la dependencia de productos químicos y fomentar la producción sustentable en Ecuador.

1.1.2 Orujo de uva como subproducto de interés biotecnológico.

1.1.2.1 Usos de la uva.

La uva o *Vitis vinífera* L., es una fruta que genera excelentes ingresos económicos con respecto a otros cultivos. Según **Khan et al. (2020),** la uva genera 14 veces más ingresos que el trigo. La elevada demanda de la uva en el mundo se debe principalmente a sus efectos en la salud. *Vitis vinífera* L. controla la presión arterial, la diabetes y tiene la capacidad de controlar enfermedades cardiovasculares. Incluso, sus compuestos bioactivos como el resveratrol, ayuda a controlar el Alzheimer, enfermedades del sistema nervioso, posee propiedades anticancerígenas, favorece las glándulas y los intestinos, especialmente el grueso. Además, controla las infecciones fúngicas y virales, minimizando el riesgo de parálisis. *Vitis vinífera* L., es considerada ¨la reina de las frutas¨. Sus principales usos están distribuidos uniformemente en la **Tabla 1**.

Tabla 1.

Usos de Vitis vinífera L., en el mundo.

Número	Usos	Porcentaje
1	Producción de vino	71%
2	Fruta fresca	27%
3	Fruta seca o deshidratada	2%
Total	---------.	100%

Nota. Elaboración propia. Obtenido de **(Khan et al., 2020).**

1.1.2.2 Residuos agroindustriales de uva en Ecuador.

A menudo la uva es procesada como; jugo, o pasa por un proceso de fermentación para la elaboración de; vino, vinagre o brandy, como subproductos se generan entre el 7 y 23% de residuos orgánicos; semillas, tallos, cáscara, hojas y pulpa, que generalmente se desechan o se utilizan como compost. Según **Khan et al. (2020)**, los residuos agroindustriales pueden ser aprovechados en diferentes procesos debido su máximo potencial como fuente de compuestos bioactivos, además de minimizar el impacto ambiental y generar la economía circular.

Khan et al. (2020), los residuos orgánicos de la uva tienen diversos fitoquímicos como: antocianinas, polifenoles, alcoholes y otros compuestos, que pueden ser valorizados al extraerlos individualmente y aportar un valor agregado. Generalmente las uvas moradas poseen un contenido total de polifenoles más abundante que otras especies, principalmente de antocianinas.

1.1.2.3 Definición de orujo de uva.

En la elaboración del vino se utiliza únicamente la pulpa de la uva y los otros componentes: semillas, pieles y tallos, son denominados ¨orujo de uva¨, es decir, es el subproducto sólido o los residuos orgánicos resultado del procesamiento de la elaboración de vino **(Khan et al., 2020)**.

1.1.2.4 Composición física y química del orujo de uva.

El orujo de uva se forma durante la fase de prensado y se recupera después de la fermentación de la producción de vino. Según **Lopes et al. (2025)**, la composición física y química depende de la variedad de uva, la técnica, práctica de vinificación y los factores ambientales. Los componentes físicos y químicos se detallan en la **Tabla 2.**

Tabla 2.

Composición física y química del orujo de uva. *Nota:*

Composición Física	**Composición química**		
Orujo Uva Componente (%)	**Piel Componente (%)**	**Semilla Componente (%)**	**Pedúnculo Componente (%)**
Piel 50%	Fibra 51–56%	Fibra dietética 74,3%	Celulosa 12-36%
Semilla 25%	Proteína 5%	Fibra insoluble 67,1%	Hemicelulosa 14-26%
Tallo 25%	Proantocianidinas 15%	Lignina 31,5%	Lignina 23-34%
	Pécticas ácidas 20%	Proteínas 8,8%	Polifenoles 2-8%
	Polisacáridos 30%	Cenizas 2,2%	
	Polifenoles 30-35%	Polifenoles 60-70%	

Elaboración propia. Obtenido de: **(Lopes et al., 2025)**.

Lopes et al. (2025), estas características hacen que el residuo orgánico sea útil para diversas opciones de valorización: industrias farmacéuticas, alimentarias, cosméticas y la nutracéutica.

1.1.3 Compuestos polifenólicos.

1.1.3.1 Definición de compuestos polifenólicos.

Los polifenoles son metabolitos secundarios que se generan de manera natural en diversas especies vegetales, tales como; frutas, verduras, legumbres, cereales, frutos secos, especias, hiervas y bebidas. Según **Prabhu et al. (2021)**, los tipos y la concentración de polifenoles dependen de: las condiciones ambientales, el origen, cultivo, madurez y el almacenamiento de la especie vegetal. Asimismo, son

compuestos orgánicos que se forman a partir de varias unidades de fenoles. Poseen un peso molecular de 800 Dalton, que permite traspasar la membrana celular y llegar a partes intracelulares; pigmentos o fitoquímicos. **Belscak et al. (2018),** los polifenoles químicamente poseen características estructurales fenólicas y suelen llamarles polifenoles o fenoles vegetales.

1.1.3.2 Clasificación de polifenoles.

Los polifenoles se clasifican en base a su; estructura química, vías de síntesis, composición, y anillos de azúcar. Los polifenoles principales son; flavonoides, lignanos, amidas polifenólicas, ácidos fenólicos y estibinas. **Prabhu et al. (2021)**, existen 8000 tipos de polifenoles. Algunos de ellos son subcategorizados en la **Tabla 3.**

Tabla 3.

Clasificación de polifenoles.

Tipo de polifenol	Subcategoría de polifenol
Ácido fenólico	Ácido fenólico
	Ácido hidroxibenzoico
Flavonoides	Flavonas
	Flavonoles
	Isoflavonas
	Flavanonas
	Antocianinas
Estilbenos	Resveratrol
	Piceatannol
Lignanos	Sesamol
	Pinoresinol
	Sinol
	Enterodiol
Taninos	Taninos hidrolizables
	Taninos no hidrolizables
	Taninos condensados
Ligninas	Lignina Guayacilo (G)
	Lignina Siringilo (s)

	Lignina H (p-hidroxifenilo)
Xantonas	α −mangostina (alfa)
	γ – mangostina (gama)
Antraquinonas	Emodina
	Aloínas
	Senósidos
	Cascarósidos

Nota: Elaboración propia. Obtenido de: **Prabhu et al. (2021).**

Asimismo, **Belscak et al. (2018),** clasifica a los polifenoles según el origen, la distribución natural, función biológica y estructura química **(Ver ANEXO 1).**

1.1.3.3 Estructura química de polifenoles.

Belscak et al. (2018), los polifenoles se forman a partir de varios grupos hidroxilo en los anillos aromáticos y poseen moléculas con un solo anillo fenólico **(Ver ANEXO 2)**. Su estructura actúa como captador de radicales libres. Por ejemplo; la estructura de los flavonoides varía de acuerdo con el grado de hidroxilación e hidrogenación del sistema de 3 anillos de los compuestos. Por lo contrario, los ácidos fenólicos poseen un anillo bencénico, uno o más grupos metoxilos e hidroxilos en las moléculas y un grupo carboxilo. El núcleo fenólico, es un anillo aromático de 6 carbonos con grupos hidroxilos y varían desde los grandes polímeros hasta fenoles simples.

1.1.3.4 Propiedades fisicoquímicas de polifenoles.

Las propiedades fisicoquímicas de polifenoles varían según las estructuras particulares de los tipos de polifenoles, entre ellas algunas de las propiedades se describen en la **Tabla 4.**

Tabla 4.

Generalidades de las propiedades fisicoquímicas de polifenoles.

Propiedad	Descripción
Solubilidad	Son solubles en disolventes orgánicos polares como el agua. La solubilidad en el agua aumenta mientras más grupos hidroxilos estén presentes.
Absorción de luz ultravioleta	La absorción de luz ultravioleta varía según la clase de compuestos fenólicos. Por ejemplo, los compuestos fenólicos tienen una intensa absorción en la luz

	ultravioleta mientras que las antocianinas y betacianinas en la luz visible.
Propiedades protectoras de las plantas	Posee un mecanismo de protección contra el estrés abiótico y biótico en plantas, además participa en su crecimiento y desarrollo.
Pigmentos y sustancias odoríferas de las plantas	Influyen en el sabor de los alimentos, como pigmentos morados, amarillos, azules, rojos. Incluso poseen actividad reductora, propiedad antioxidante, es sensible a la oxidación, tiene afinidad por las proteínas, receptores y enzimas.

Nota: Elaboración propia. Obtenido de: **(Belscak et al., 2018).**

1.1.4 Métodos de extracción de compuestos bioactivos.

1.1.4.1 Tipos de métodos de extracción.

Lopes et al. (2025), existen diversos métodos de extracción. Su uso depende de:

- **Naturaleza de la muestra:** líquido, sólido o materia prima vegetal.
- **Objetivo del proceso**: pureza, costo, rapidez, tiempo y rendimiento.
- **Propiedades fisicoquímicas de compuesto objetivo:** estabilidad térmica, polaridad, volatilidad y solubilidad.
- **Uso final:** si el extracto se utiliza como suplemento alimenticio o fármaco, no se debe trabajar con un disolvente tóxico.

Considerando estos factores, **Lopes et al. (2025)**, los métodos se describen en la **Tabla 5.**

Tabla 5.

Métodos de extracción de compuestos bioactivos.

Métodos	Descripción
Extracción sólido – líquido	Se emplea disolventes diversos como; agua, acetona, acetato de etilo, metanol, etanol, etc. Su uso dependerá del material objetivo, del rendimiento deseado, tiempo de solubilidad y degradación de compuestos volátiles.

Extracción asistida por ultrasonido	Se emplea ondas sonoras generalmente de 20 kHz a 10 MHz para romper la pared celular y que el disolvente pueda penetrar.
Extracción asistida por microondas	Utiliza la energía del microondas entre 300 y 500 W, con la intención de romper enlaces, incrementar el movimiento molecular y mejorar la dispersión de compuestos bioactivos en el disolvente empleado en la extracción.
Descarga eléctrica de alto voltaje	Se usa altos campos eléctricos usualmente de 40 a 60 kV/cm. Consiste en la generación de ondas de cavitación y de choque que ayudan a romper las partículas y romper paredes celulares permitiendo la liberación de los compuestos bioactivos.
Extracción asistida por enzimas	Este método se basa en reemplazar los disolventes tóxicos por agua como disolvente principal. Seguidamente se trabaja con enzimas específicas para degradar los polisacáridos de la pared celular, romper la estructura celular y liberar compuestos bioactivos.
Calentamiento óhmico	Este método combina el tratamiento eléctrico con el térmico al usar campos eléctricos y temperaturas leves. Hace que la pared celular sea permeable y genera la electroporación de esta.
Procesamiento a alta presión	Se aplica alta presión a una matriz. Provoca que en la vacuola vegetal haya una fuga de aire lo que induce a un daño en la membrana celular y el paso del disolvente de extracción a la célula.
Disolventes eutécticos profundos	La técnica implica extraer compuestos bioactivos a través del calentamiento generalmente (80 °C), utilizando disolventes como; betaína, glucosa, glicerol , ácido oxálico o cloruro de colina.

Nota: Elaboración propia. Obtenido de: **(Lopes et al., 2025).**

1.1.4.2 Ventajas y desventajas de los métodos de extracción.

Según **Lopes et al. (2025),** los métodos de extracción descritos en la **Tabla 5,** se seleccionan en base a la finalidad de cada proyecto. A continuación, en la **Tabla 6,** se describen las ventajas y desventajas de cada método.

Tabla 6.

Ventajas y desventajas de los métodos de extracción modernas y convencionales.

Método	Ventajas	Desventajas
Convencional	▪ Método fácil ▪ Accesible ▪ Porcentaje de recuperación satisfactorio	Calidad del extracto bajo No es respetuoso con el medio ambiente por el uso de disolvente tóxicos
Extracción con fluidos supercríticos	Tasa de extracción alta Sistema automatizado Sistema respetuoso con el medio ambiente y eficiente	Equipo costoso Pérdida de compuestos volátiles
Extracción asistida por ultrasonido	Eficiencia de extracción y mezcla alta Tasa de extracción rápida Barato Eficaz para compuestos termolábiles	Se requiere más disolvente Falta de uniformidad por la distribución desigual de la energía ultrasónica
Extracción asistida por microondas	Extracción corta (3 -30 min) No se consume mucho disolvente Rendimiento de extracción alto Conserva el color, sabor y nutrientes	Inefizac para disolventes no polares Equipo costoso
Descarga eléctrica de alto voltaje	No consume mucha energía Eficiencia de extracción alta	Los compuestos de extracción pueden degradarse Los electrodos tienen una vida útil limitada
Disolventes eutécticos profundos	Precio bajo Baja toxicidad Rendimiento de extracción alto Biodegradable	Se requiere de filtración Alta densidad

Nota: Elaboración propia. Obtenido de: **(Lopes et al., 2025).**

1.1.4.3 Factores que afectan el rendimiento de extracción.

El rendimiento de extracción dependerá del tipo de disolvente, las condiciones de secado, almacenamiento, acidez y del método de extracción empleado. **Lopes et al. (2025),** los factores que afectan la eficiencia y el rendimiento de extracción son:

- **Calidad de la materia prima:** A menor tamaño del componente mayor tasa de extracción.
- **Temperatura:** A mayor temperatura mayor solubilidad del soluto, mejora la velocidad de extracción. Sin embargo, se pueden degradar los compuestos.
- **Relación sólido – disolvente:** A mayor disolvente y menor biomasa el rendimiento de extracción aumenta, pero si la biomasa es demasiada alta se reduce la pureza del extracto.
- **Tiempo:** A mayor tiempo mayor ineficiencia.
- **Humedad:** No debe superar el 10%, porque el contenido de agua puede contrarrestar al disolvente.

1.1.5 Generalidades de cuantificación de polifenoles.

1.1.5.1 Métodos de cuantificación de polifenoles.

Ajila et al. (2011), los compuestos fenólicos se cuantifican en base a distintos parámetros como; condiciones de almacenamiento, naturaleza de los compuestos químicos, tiempo, método de extracción, etc. Algunos de los métodos espectrométricos modernos se mencionan a continuación:

- **Espectroscopia UV – Vis:** Para la estimación de polifenoles totales se utiliza comúnmente el método de Folin-Ciocalteu. Este método se basa en el transporte de electrones. Primero se reduce el reactivo ácido fosfomolíbdico y dependiendo de la concentración de compuestos fenólicos se forma un complejo amarillo y continuamente un azul intenso. El método azul de Prusia se basa en la reducción de Fe (III) a Fe (II) y da paso al quelato de hexacianoferrato (II).
- **Espectroscopia NIR:** La espectroscopia de infrarrojo (NIR), requiere de una muestra mínima y su diagnóstico es rápido. A través de este método, se absorbe la luz a distintas longitudes de onda y se correlaciona con la composición de la muestra. Por otra parte, la resonancia magnética (RMN), se utiliza para elucidar estructuralmente los compuestos fenólicos y es necesario una cantidad grande del compuesto, además, un patrón de referencia.
- **Métodos cromatográficos:** El HPLC es ampliamente utilizado para cuantificar polifenoles. Emplea diversos soportes y fases móviles. Además, métodos como la cromatografía líquida, de capa fina, de columna y de fase inversa, son ampliamente utilizados. La cromatografía

contracorriente de alta velocidad (HSCCC), se divide en dos fases líquidas como; la estacionaria y móvil que requieren grandes cantidades de muestra.

- **Electroforesis capilar:** Para separar los polifenoles, los analitos cargados migran electroforéticamente. Se basa en la diferencia entre la masa de soluto, relación carga y el grado de ionización de los polifenoles. En este grupo se incluyen; electroforesis capilar de zona (CZE) y cromatografía electroforesis micelar (MEKC).
- **Biosensores:** Se fundamenta en la interacción del elemento de reconocimiento con el analito. Los biosensores se forman a partir de un elemento de reconocimiento biomimético o biológico, como; anticuerpos, células, ácido nucleico o enzimas con el sistema de transducción.

1.1.5.2 Ventajas y limitaciones de los métodos de cuantificación de polifenoles.

Todos los métodos de cuantificación mencionados en el punto **1.1.5.3,** tienen ventajas y desventajas, independientemente de su naturaleza. El detalle se observa en la **Tabla 7.**

Tabla 7.

Ventajas y desventajas de los métodos de cuantificación de compuestos bioactivos.

Método	Ventajas	Desventajas
Espectroscopía UV - Vis	Sencillo Económico Folin - Ciocalteu es fácil de usar.	Folin – Ciocalteu no es específico porque puede reaccionar con proteínas y otros agentes reductores.
Espectroscopía NIR	Rápida No destructiva Muestra mínima	Equipos costosos Requiere de calibración previa
Métodos cromatográficos	Cuantifica diversos compuestos fenólicos Se puede combinar el HPLC con el MS y mejorando la información molecular y estructural de compuestos no conocidos.	Mayor tiempo de análisis Equipos especializados Se requiere preparar una muestra compleja
Electroforesis capilar	Alta eficiencia Bueno resolución Método rápido	Método ineficiente a gran escala Reproducibilidad ineficiente

	Se utiliza una cantidad mínima de muestra Disolvente mínimo Se pueden separar muestras complejas de polifenoles	Límites de detección bajos Presenta dificultad para compuestos poco solubles
Biosensores	Método rápido Sensible Especifico Bajo costo	Cuantificación precisa limitada Se requiere confirmar los resultados utilizando métodos cromatográficos

Nota: Elaboración propia. Obtenido de: **(Ajila et al., 2011).**

1.1.6 Microencapsulación.

1.1.6.1 Definición de microencapsulación.

La microencapsulación es una técnica que permite recubrir partículas pequeñas sólidas, líquidas o gaseosas, forma microcápsulas que oscilan entre 5000 μm y varias décimas de micras. El recubrimiento puede ser en uno o dos polímeros. Las microesferas poseen una pared micrométrica blanda, dura, soluble y de gran relevancia, porque permite dosificar el compuesto activo, evita su degradación y protege el compuesto de factores ambientales como; oxígeno, humedad, luz y temperatura. Según **Garg et al. (2018),** la microencapsulación depende del material a encapsular específicamente de sus propiedades físicas y químicas.

1.1.6.2 Métodos de microencapsulación.

Peanparkdee et al. (2016), los métodos de microencapsulación se describen en la **Tabla 8.**

Tabla 8.

Métodos de microencapsulación.

Métodos químicos	Métodos físicos	Métodos fisicoquímicos
Polimerización in situ. Liposomas.	Secado por pulverización. Recubrimiento en lecho fluidizado. liofilización.	Coacervación. Encapsulación sol -gel.

Nota: Elaboración propia. Obtenido de: **(Peanparkdee et al., 2016).**

A continuación, se detallan los métodos de la **Tabla 8.**

1) **Métodos químicos.**

- **Polimerización *in situ:*** Se caracteriza por formar un hidrogel tridimensional, insoluble en soluciones acuosas. Se forma a partir de la mezcla de compuestos bioactivos en una solución acuosa, posteriormente se inyecta en el sitio objetivo.
- **Liposomas:** Se encapsulan soluciones acuosas en el interior de la membrana fosfolipídica.

2) **Métodos físicos.**

- **Secado por aspersión (Spray drying):** Forma una emulsión estable con el material del núcleo y la solución del material de la pared. Posteriormente, se somete a un secador por pulverización hasta convertirlo en una partícula seca. El método es de costo bajo, se adapta fácilmente a escala industrial y es de alta eficiencia.
- **Recubrimiento en lecho fluidizado:** Generalmente se usa para cubrir partículas sólidas. Las microcápsulas, se forman a partir de 3 etapas: nucleación, transición y esferas en crecimiento. Sobre la cámara de recubrimiento, se suspenden las partículas, se rocía la solución polimérica, se evaporan las gotas y se forman las microcápsulas.
- **Liofilización:** Dado por sublimación y útil para compuestos que son altamente sensibles al calor. El proceso, se realiza en un liofilizador y requiere de tiempo y es costoso.

3) **Métodos fisicoquímicos.**

- **Coacervación:** Este método se basa en la separación de varios hidrocoloides o uno solo de la capa de solución polimérica. Depende del pH, temperatura, estructura de las macromoléculas y de la fuerza iónica.
- **Encapsulación sol – gel:** Implica el atrapamiento en una matriz polimérica o absorción en superficies de vidrio, donde crecen las cadenas poliméricas en la superficie de las biomoléculas. Su costo es accesible y seguro, sin embargo, su mecanismo puede alterar las propiedades químicas y biológicas del compuesto activo **(Peanparkdee et al., 2016)**.

1.1.6.3 Materiales de pared (Encapsulantes).

Existen diversos materiales de recubrimiento en el proceso de microencapsulación, entre los más usados son:

- **Resina soluble en agua:** Goma arábiga, metilcelulosa, ácido poliacrílico, arabinogalactano, gelatina y almidón, maltodextrina.
- **Resinas entéricas:** Zeína, goma laca, ftalato de acetato de celulosa.

- **Resinas insolubles en agua:** Polietileno, nitrato de celulosa, siliconas, etilcelulosa, poliamida.
- **Ceras y lípidos:** Cera de abeja, glicerilo, parafina, espermaceti (**Garg et al., 2018)**.

1.1.6.4 Importancia de microencapsulación.

Garg et al. (2018), la microencapsulación aporta protección contra bases, ácidos, biooxidación, rayos UV y calor. Incluso prolonga una mayor vida útil, mejora la capacidad de solubilidad, permeabilidad y de flujo, permite manipular líquidos como si parecieran sólidos y enmascara olores y sabores amargos. Asimismo, dosifica el compuesto activo al facilitar la liberación controlada del mismo.

1.1.6.5 Aspectos críticos del proceso de microencapsulación.

Huang et al. (2023), así como existen ventajas del proceso de microencapsulación, se considera diversos factores para ver si la obtención del producto final es viable o no. Existen 5 factores que permiten analizar su viabilidad.

- Tecnología de microencapsulación aplicada.
- Formulación de las microcápsulas.
- Complejidad del proceso.
- Producción de microcápsulas que cumplan con estándares requeridos.
- Costo de producción.

Todos los factores mencionados son importantes, porque cada aspecto puede alterar las propiedades fisicoquímicas de las microcápsulas, así como; la cinética de liberación, estabilidad térmica y la degradación oxidativa de compuestos bioactivos.

1.1.7 Principales enfermedades fúngicas que afectan al tomate riñón.

1.1.7.1 Presencia e impacto de *Botrytis* spp. y *Fusarium* spp., en tomate riñón.

Los patógenos fúngicos atacan a varios cultivos hortícolas de gran importancia económica. El tomate riñón o *Solanum lycopersicum L.,* es uno de los cultivos más populares e indispensables en la cadena alimenticia. Pero, se ha vuelto vulnerable a la presencia de hongos ya sea en la producción, cosecha, transporte y almacenamiento. Entre los patógenos fúngicos más comunes son; *Fusarium spp.* y *Botrytis cinerea* **(Shakya & Aryal, 2021).**

1.1.7.1.1 *Fusarium* spp.

La marchitez vascular, dado por *Fusarium* spp., se detecta cuando las hojas inferiores se tornan amarillentas, los tallos superiores marrón oscuro, existe decoloración cortical y vascular. Las raíces principales y laterales sufren de lesiones necrótidas color marrón. Existe pudrición radicular y marchitamiento completo y en casos severos, provoca la muerte vegetal. Genera pérdidas de

rendimiento entre el 45 -55 % y bajo condiciones ambientales favorables entre el 70 % (27–30 °C) y 90% en climas fríos ($< 20°C$) **(Panno et al., 2021).**

1.1.7.1.2 *Botrytis* spp.

El moho gris, originado por *Botrytis spp.,* se caracteriza por presentar una pudrición blanda de frutos, aglomeraciones grises de conidios y tallos con lesiones. Representan pérdidas de rendimiento del 20%. Bajo condiciones ambientales favorables (15-20 °C) alcanzan el 40% y en humedad relativa un 90% **(Panno et al., 2021).**

1.1.7.2 Pérdidas productivas y poscosecha de *Solanum lycopersicum* L.

Según el **Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador (2023),** las causas de la pérdida por superficie del cultivo se deben principalmente a plagas y enfermedades (89%), heladas (2%), otras causas (9%), incluye sequías 0,8%, otras razones 8,3% y 0,2% por inundaciones.

1.1.8 Métodos convencionales para controlar fitopatógenos vegetales y sustituir el control químico.

Cook (2012), los principales métodos para controlar plagas vegetales son:

- **Control físico:** Incluye la labranza para el control de malezas, la quema de campo abierto para quemar plagas, cubrir el suelo con plástico transparente para inducir el calentamiento solar, aplicar un tratamiento térmico leve para eliminar patógenos de las raíces.
- **Control químico:** Todo proceso en el que se aplica plaguicidas químicos.
- **Control biológico:** Se aplica organismos de control para contrarrestar otra especie. Su uso depende de la interacción biológica en el ecosistema, a nivel molecular, celular y orgánico. Su aplicación es más estable, segura y duradera con respecto al método físico y químico. Además, de la rotación de cultivos, incorporación de enemigos naturales como insectos y el uso de organismos modificados genéticamente.
- **Manejo integrado de plagas (MIP):** En este método se combina el tratamiento biológico, físico y químico.
- **Manejo integrado de cultivos y plagas (MICP):** Se utilizan bacterias, capaces de precipitar cristales de carbonato de calcio en suelos porosos.
- **Cuidado holístico:** rotación de cultivos, cultivos resistentes a plagas, enriquecimiento de organismos benéficos, mantener la materia orgánica en el suelo.
- **Biopesticidas:** Se trabaja con material vegetal, aprovechando los metabolitos secundarios que diversas especies vegetales producen en su ciclo de vida.

1.1.9 Generalidades de la evaluación antifúngica *in vitro.*

1.1.9.1 Definición actividad antifúngica.

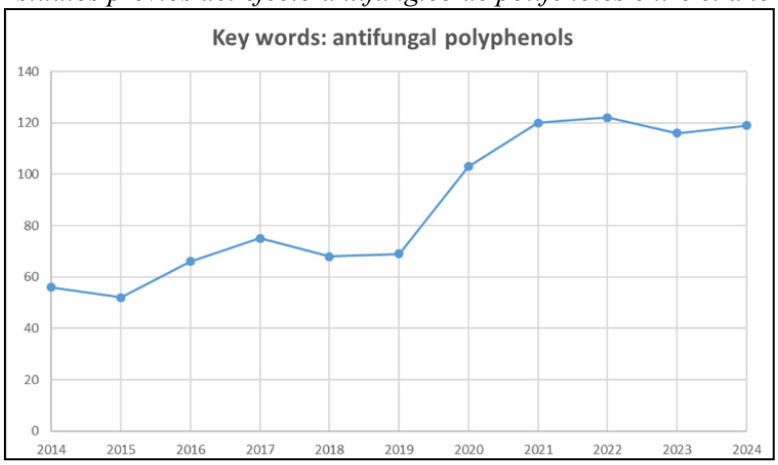
Davidova et al. (2024), la actividad antifúngica, es la capacidad que posee una sustancia de naturaleza sintética o natural para inhibir y destruir el crecimiento de fitopatógenos vegetales. Generalmente estas sustancias sintetizan la pared celular o la membrana plasmática, lo que impide su reproducción e induce su muerte celular.

1.1.9.2 Actividad antifúngica de polifenoles.

Los polifenoles desempeñan un papel primordial en el control de patógenos vegetales y reaccionan positivamente frente al estrés abiótico: radiación ultravioleta y lluvia. **Davidova et al. (2024),** se ha discutido ampliamente sobre la recuperación de polifenoles vegetales y su posible aplicación como fuente antifúngica. En la **Figura 1,** se observan estudios previos de los polifenoles, como posible biopesticida agrícola.

Figura 1.

Estudios previos del efecto antifúngico de polifenoles entre el año 2014 – 2024.



Nota: Elaboración propia. Obtenido de: **(Davidova et al., 2024).**

Davidova et al. (2024), la actividad antifúngica se atribuye a los grupos hidroxilo que se unen a los anillos aromáticos, su estructura permite captar especies reactivas de quelantes de $Fe3^{+}$ y oxígeno que permite catalizar la peroxidación lipídica. Algunas de las estructuras químicas con actividad antifúngica se pueden visualizar en el **ANEXO 3.**

1.1.9.3 Mecanismos de acción antifúngica de polifenoles.

Los polifenoles bloquean la bomba de eflujo, alteran las proteínas; CDR2 y CDR1, interfieren en la síntesis de ergosterol, dañan la membrana y pared celular de los hongos interrumpiendo la síntesis del ATP y el paso de los iones de K^{+} y Ca^{+}. Además, generan el ROS o especie reactiva de oxígeno, causando daño en las mitocondrias **(Davidova et al., 2024).**

1.1.10. Métodos de evaluación de la actividad antifúngica *in vitro*.

1.1.10.1 Dilución en caldo.

Sánchez et al. (2021), la dilución en caldo se realiza en medios de cultivo líquido. El cultivo madre tendrá una concentración conocida y mayor al agente estudiado. A continuación, se incuba, y si hay turbidez en el medio se confirma el crecimiento de microorganismos.

1.1.10.2 Difusión en disco de agar.

Es un método sencillo y rápido para detectar la eficacia de la actividad antifúngica de determinados compuestos. **Sánchez et al. (2021),** los discos son preparados con papel comercial, en el mismo se inyecta una cantidad conocida de la sustancia con el principio activo, se incuba y después de un período de tiempo se visualiza un área de inhibición alrededor del disco. Se cuantifica el área de inhibición y se detecta la sensibilidad de la sustancia aislada frente a un compuesto activo, además del grado de difusión sobre el agar. Según las directrices CLSI, la cuantificación de las áreas de inhibición se puede clasificar como; nula, sensible, medianamente sensible y resistente.

1.1.10.3 Difusión en agar con pocillos.

Sánchez et al. (2021), la técnica consiste en insertar en la superficie de la placa con agar, un microorganismo y distribuirlos uniformemente. Posteriormente, se realizan pocillos de 6 – 8 mm de diámetro, en el que se insertará un volumen fijo del agente antifúngico. Después de la incubación y condiciones adecuadas, se generan halos de inhibición.

1.1.10.4 Difusión en tapón de agar.

Se cultiva la cepa analizar en una placa de agar. La cepa se infiltra en el medio y tras un período de control en condiciones de incubación, se corta un fragmento de agar, se coloca en otra placa de agar previamente inoculada con el microorganismo estudiado. Este método, evalúa las interacciones antagónicas entre dos microorganismos a través de la formación de halos de inhibición **(Sánchez et al.,2021)**.

1.1.10.5 Método de los alimentos envenenados.

El método consiste en suplementar el medio de cultivo estéril con el agente tóxico, antes de la solidificación. Según **Sánchez et al. (2021),** el hongo se inocula asépticamente en el centro de la placa, se deja incubar. Posteriormente, se mide el diámetro de crecimiento de las colonias fúngicas de las placas envenenadas y control.

Ecuación 1. Cálculo del efecto Inhibitorio por el método de alimentos envenenados.

$$\textbf{\% Efecto Inhibitorio} = \left(\frac{\text{Diámetro del halo de inhibición del tratamiento}}{\text{Diámetro del halo del control positivo}}\right) * 100 \quad \textbf{(ec 1.)}$$

1.1.10.6 Método de macrodilución en caldo.

Conocido como técnica de dilución en tubo, requiere de cantidades grandes de reactivos, carga de trabajo elevada, preparación manual de diluciones y posible aparición de errores. Se incuba y se analizan los resultados en base a la turbidez exhibida **(Sánchez et al.,2021)**.

1.1.10.7 Método de microdilución en caldo.

Sánchez et al. (2021), el método de microdilución requiere de menos trabajo y es más eficiente. Se trabaja en una microplaca de 96 pocillos, en cada pocillo se realizan diversas pruebas, por ende, es un método más económico ya que requiere de menos reactivos. En cada pocillo, se coloca una suspensión del compuesto antimicrobiano diluido, una suspensión microbiana fija y se obtiene la concentración microbiana final. Para calcular la concentración mínima inhibitoria (CMI), se realiza diluciones del agente antifúngico, se deja incubar por 24 – 48 h, y se mide las absorbancias a 450 nm o 620 nm.

Ecuación 2. Cálculo del porcentaje de inhibición por el método de microdilución en caldo.

$$\%\boldsymbol{Inhibición} = \left(1 - \frac{Absorbancia\ del\ tratamiento}{Absorbancia\ del\ control\ positivo}\right) * 100 \textbf{ (ec 2.)}$$

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general

Analizar la capacidad antifúngica de polifenoles microencapsulados obtenidos a partir de orujo de uva *(Vitis vinifera* L.*),* frente a *Botrytis spp.* y *Fusarium spp.*

1.2.2 Objetivos Específicos

- Determinar el contenido de polifenoles del extracto obtenido a partir de orujo de *Vitis vinifera* L., mediante el ensayo colorimétrico Folin–Ciocalteu.
- Desarrollar un microencapsulado de polifenoles de *Vitis vinifera* L., mediante secado por aspersión.
- Evaluar la actividad antifúngica *in vitro* de los polifenoles microencapsulados de orujo de uva frente a *Botrytis* spp. y *Fusarium* spp.

CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA

2.1 Materiales

La parte experimental se ejecutó en la Unidad Operativa de Investigación y Desarrollo (UODIDE) de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, en el 1.1 Laboratorio de Caracterización microscópica, en el 2.3 de Microbiología y en la Planta Piloto. Los materiales, reactivos y equipos utilizados se detallan en la **Tabla 9.**

Tabla 9.

Materiales, reactivos y equipos necesarios para la fase experimental del proyecto de investigación.

Materiales	Cantidad
Material para la extracción de polifenoles y microencapsulación.	
Espátula	1
Pirotines	25
Tubos Falcon	54
Tubos eppendorf	6
Gradilla de 50 ml	1
Gradilla de 10 ml	1
Matraz de 100 ml	5
Balones de aforo de 100 ml	2
Pipeta graduada de 10 ml	1
Pera de succión	1
Micropipeta de 20-200 µL	1
Micropipeta de 100 – 1000 µL	1
Puntas de micropipeta 200 µL	1 caja
Puntas de micropipeta 1000 µL	1 caja
Microplaca de 96 pocillos	1
Masking	1
Vaso de precipitación de 250 ml	2
Vaso de precipitación de 5 L	1
Vaso de precipitación de 1000 ml	1
Barra magnética redonda de teflón	1
Fundas ziploc medianas	5
Papel aluminio	1
Material fúngico	
Rotulador	1
Frasco autoclavable de 500 ml	2

Frasco autoclavable de 100 ml	1
Tubos de ensayo	12
Visturí	1
Pinza	1
Gradilla 10 ml	1
Cajas Petri	40
Mechero de alcohol	2
Papel absorbente	1
Punzón	1
Asa de siembra	1
Asa de drigalsky	1
1 caja de fósforo	1
Equipos	
Deshidratador de alimentos	1
Licuadora	1
Centrífuga HETTICH ROTINA 380	1
BÜCHI Mini Spray Dryer B-290.	1
Espectrofotómetro FISHER SCIENTIFIC ACCUSKAN GO	1
Balanza analítica OHAUS ADVENTUR PRO MODEL AV264C	1
Balanza de humedad KERN MLS 50-3	1
Rotavapor IKA RV8	1
Plancha de calentamiento y agitación magnética IKA WORKS C-MAG-HS 10	1
Autoclave	1
Incubadora 1	1
Cabina de flujo laminar	1
Materia prima	
Orujo de uva	500 g
Reactivos	
Etanol 96%	5 L

Agua destilada	5 L
Hipoclorito de sodio (NaClO)	300 ml
Agua peptonada	3 g
Agar Patata Dextrosa (PDA)	30 g
Hidróxido de potasio (KOH)	1 g
Azul de lactofenol	5 ml
Hidróxido de potasio (KOH)	5 ml

Nota. Elaboración propia.

2.2 Métodos.

2.2.1 Determinación del contenido de polifenoles del extracto obtenido a partir de orujo de *Vitis vinifera* L., mediante el ensayo colorimétrico Folin–Ciocalteu.

2.2.1.1 Obtención del material vegetal.

El orujo de uva (*Vitis vinifera* L.), se obtuvo de la vinícola ¨Quinta Llanganates¨, ubicada en el cantón Patate de la provincia Tungurahua y se trasladó a los laboratorios de investigación de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

2.2.1.2 Preparación del material vegetal

Posterior al traslado del material vegetal, el orujo de uva se llevó al deshidratador por convección a 60 °C por 16 horas, hasta tener una apariencia crujiente. Se trituró en una licuadora para obtener un polvo fino, con humedad de 4,624% **(Ver Anexo 4)**. Se envasó en una bolsa ziplock mediana y fue almacenada a temperatura ambiente hasta su posterior análisis. A continuación, se sometió a procedimientos de extracción **(Gurgenidze et al., 2022).**

2.2.1.3 Extracción de polifenoles en soluciones Etanol – Agua

Para la extracción de polifenoles, se preparó 1g de muestra (polvo de orujo de uva) en 20 mL de solución de extracción; agua destilada - etanol (agua destilada, etanol 30%, etanol 50%, etanol 70%, etanol 96%), en tubos Falcon de 50 ml de capacidad. Posteriormente, se realizó la extracción en la centrifuga HETTICH ROTINA 380 a 4500 rpm por 45 minutos. Se recuperó el sobrenadante clarificado y se desechó el precipitado. El proceso se realizó por triplicado **(Gurgenidze et al., 2022).**

2.2.1.4 Determinación del contenido de polifenoles totales

A través de una dilución 1:10 del sobrenadante, obtenido en el punto **2.2.1.3**, el análisis de polifenoles totales se realizó en una placa de 96 pocillos a partir del método colorimétrico Folin-Ciocalteau. En cada micro pocillo se colocó 25 µl del extracto obtenido, 100 µL del reactivo Folin Ciocalteau, 75 µL del carbonato de Na_2CO_3. Se dejó reaccionar por 120 minutos a 25 °C, en oscuridad. La concentración

de polifenoles se determinó en el espectrómetro UV – VIS a 760 nm. Como blanco se utilizó el agua destilada **(Ver Anexo 5) (Gurgenidze et al., 2022)**.

Los datos de absorbancias obtenidos en el espectrofotómetro se reemplazaron en la ecuación de la recta de la curva de calibración del ácido gálico **(ec. 3)**. La curva de calibración de ácido gálico se elaboró con soluciones estándar de ácido gálico, con rangos que difieren entre; 0, 20, 40, 60, 80 y 100 (mg/mL).

Los resultados del método se analizaron mediante la ecuación lineal $R^2 = 0{,}999$

Ecuación 3. Ecuación de la recta de la curva de calibración del ácido gálico.

$$x = \frac{y-0{,}0945}{0{,}0031} \textbf{ (ec. 3)}$$

Donde:

- $\boldsymbol{y} =$ Absorbancia medida a 760 nm.

A partir del resultado de la ecuación de la recta, se sustituyó los valores obtenidos en la **ec. 4,** con la intención de calcular el contenido total de polifenoles totales en mgGAE/g.

Ecuación 4. Cálculo del contenido fenólico total.

$$\textbf{Contenido fenólico total} = \frac{(\text{Equivalente de ácido gálico})(\text{GAE})(\text{mg})}{\text{g muestra de masa seca}} \textbf{ (ec.4)}$$

2.2.1.5 Determinación de sólidos totales

El porcentaje de sólidos totales se realizó por gravimetría, en la balanza de humedad KERN MLS 50-3 **(Gurgenidze et al., 2022)**. Se determinó el contenido de humedad del extracto al colocar 2 g de muestra en el platillo de la balanza de humedad. El resultado fue sustituido en la **(ec. 5)**.

Ecuación 5. Cálculo para la determinación de sólidos totales.

$$\%\,\textbf{SST} = 100 - \%\text{Humedad } (\textbf{ec. 5})$$

2.2.1.6 Diseño experimental

Al seleccionar el mejor disolvente gracias a los puntos **2.2.1.3 – 2.2.1.4**, se aplicó el diseño factorial 3^2. El diseño matemático se tabula en la **Tabla 10.**

Tabla 10.

Tratamientos para el proceso de extracción de polifenoles.

Número	Concentración etanol (%)	Tiempo (min)
1	1:15	30
2	1:15	45

3	1:15	60
4	1:20	30
5	1:20	45
6	1:20	60
7	1:25	30
8	1:25	45
9	1:25	60

Nota. Elaboración propia.

Los tratamientos fueron centrifugados a las condiciones descritas en la **Tabla 10.** Se recuperó el sobrenadante y se descartó el precipitado. Se calculó la concentración de polifenoles totales como se describe en el punto **2.2.1.4.** Finalmente se realizó el análisis estadístico en el Software de análisis de datos STATGRAPHICS. Se seleccionó la mejor combinación (relación/tiempo), se aplicó el mayor volumen y se recuperó el extracto concentrado al eliminar el disolvente con el rotaevaporador IKA RV8 a 60 °C, 263 rpm **(Gurgenidze et al., 2022)**.

2.2.2 Desarrollo de un micro encapsulado de polifenoles de *Vitis vinifera* L., mediante secado por aspersión.

2.2.2.1 Preparación de soluciones

La microencapsulación de polifenoles se realizó por el método de secado por aspersión. Se consideró la relación 20:80, (20 sólidos del extracto: 80 del polímero). Se utilizó como polímero la maltodextrina y una combinación de maltodextrina más goma arábiga. Primero se pesó 29,528 g de maltodextrina, 20 ml del extracto concentrado y se homogenizó en 105,457 ml de agua destilada. Para la combinación de maltodextrina más goma arábiga, se pesó 14,764 de maltodextrina más 14,764 de goma arábiga, 20 ml del extracto concentrado y se mezcló en 105,457 ml de agua destilada **(Ver Anexo 6) (Tolun et al., 2016).**

2.2.2.2 Microencapsulación de polifenoles por secado por aspersión.

La microencapsulación de polifenoles de orujo uva se realizó en el equipo BÜCHI Mini Spray Dryer B-290. Las condiciones de proceso de microencapsulación fueron: temperatura de entrada 150 °C, salida 80 °C, con un caudal de aspirador de 100% y la bomba de 0,18 %. Finalizado el proceso, se recolectó las microesferas del colector en fundas ziploc y se almacenó a temperatura ambiente **(Ver Anexo 7) (Delgado et al., 2016)**.

2.2.2.3 Eficiencia cualitativa de microencapsulación por FTIR.

La eficiencia cualitativa de microencapsulación se realizó en el Espectroscopio Infrarrojo Transformada Fourier (FTIR). El intervalo de frecuencias osciló entre 550 – 4000 cm^{-1}. La evaluación se realizó para

el extracto concentrado sin microencapsular, polímero: maltodextrina, combinado: maltodextrina + goma arábiga, microesferas de orujo de uva + maltodextrina y microesferas de orujo de uva + maltodextrina + goma arábiga **(Delgado et al., 2016)**.

2.2.2.4 Eficiencia cuantitativa de microencapsulación

La eficiencia de microencapsulación cuantitativa se calculó al preparar las siguientes soluciones: 5 ml agua destilada + 0,5 g de microesferas de maltodextrina de orujo de uva y 5 ml de etanol absoluto + 0,5 gr de microesferas de maltodextrina. Asimismo, se procedió en la combinación maltodextrina + goma arábiga. Se centrifugó a 4500 rpm por 10 minutos, se aplicó una dilución 1:10 y se calculó la concentración de polifenoles totales en base al punto **2.2.1.4.** Finalmente, los resultados se sustituyeron en la **(ec.6) (Delgado et al., 2016).**

Ecuación 6. Cálculo para el porcentaje de Eficiencia de microencapsulación.

$$\boldsymbol{EE}\ (\%) = \frac{\boldsymbol{CPT_{Agua} - CPS_{Etanol}}}{\boldsymbol{CPT_{Agua}}} * \mathbf{100}\ \textbf{(ec. 6)}$$

Donde:

EE%: Eficiencia de microencapsulación.

CPS_{Etanol}= Concentración de polifenoles en la superficie de la microesfera.

CTP_{Agua}= Concentración de polifenoles totales en la microesfera.

2.2.2 Rendimiento de microencapsulación

El rendimiento de microencapsulación se calculó en base a la **(ec.7) (Delgado et al., 2016).**

Ecuación 7. Cálculo para el porcentaje de rendimiento de microencapsulación.

$$\textbf{Rendimiento}\ (\%) = \frac{\text{Polvo microencapsulado de polifenoles obtenido (g)}}{\text{Masa de sólidos alimentada al secador (g)}} * 100\ (\textbf{ec.7})$$

2.2.3 Evaluación de la actividad antifúngica *in vitro* de los polifenoles microencapsulados de orujo de uva frente a *Botrytis* spp. y *Fusarium* spp.

2.2.3.1 Área de investigación y muestreo.

El muestreo se realizó en la parroquia Cunchibamba del cantón Ambato, en invernaderos de tomate riñón. Se trabajó con plantas infectadas con *Botrytis* spp., y *Fusarium* spp. Cada infección fúngica, se recolectó en bolsas ziplock, se etiquetó en base a la georreferencia, fecha y hora de recolección. Finalmente, las muestras se trasladaron hasta el Laboratorio de investigación de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato **(Ver Anexo 8)**.

2.2.3.2 Aislamiento y purificación de fitopatógenos del tomate riñón.

2.2.3.2.1 Aislamiento y purificación de *Botrytis* spp. y *Fusarium* spp.

Las muestras infectadas por *Botrytis* spp. *y Fusarium* spp., fueron lavadas con agua destilada para eliminar contaminantes no deseados. Con un bisturí estéril se realizó cortes de 5 mm^2. Se desinfectó con hipoclorito de sodio al 1% y etanol 70%, durante 30 segundos. Se enjuagó con agua destilada por 1 minuto. A continuación, se sembró los trozos de tejido en cajas Petri con PDA (Agar papa dextrosa), suplementando con gentamicina (80 mg/L)**.** Finalmente, se sometió a incubación por 7 días a temperatura ambiente (23 ± 2 °C) hasta conseguir colonias características de *Botrytis* spp. y *Fusarium* spp. La purificación se realizó bajo el método de siembra por transferencia de micelio **(Ver Anexo 9) (Ma et al.,2018)**.

2.2.3.2.2 Identificación morfológica de fitopatógenos de tomate riñón

Para la identificación morfológica de *Botrytis* spp. y *Fusarium* spp. se utilizaron parámetros como: color de la colonia, ausencia o presencia de esclerocios, tamaño y forma del conidio. Mientras que, para observar las características microscópicas de los conidióforos y conidios se utilizó el microscopio electrónico MOTIC BA310 MOTIC2 y como reactivo el azul de lactofenol **(Ver Anexo 10) (Ma et al.,2018)**.

2.2.3.3 Pruebas *in vitro* del antagonismo de micro encapsulados de polifenoles de orujo de uva frente a *Botrytis* spp., y *Fusarium* spp.

La evaluación antifúngica se realizó por el método de difusión en disco Kirby-Bauer. Primero se suspendió 100 µl de la especie antifúngica sobre la superficie del agar PDA, se sembró con un asa de siembra y después de 5 minutos se impregnó discos de papel filtro con distintas concentraciones de polifenoles microencapsulados de orujo de uva sobre el agar PDA, previamente sembrado *Botrytis* spp*.,* y *Fusarium* spp **(Nechifor et al., 2025)**.

2.2.3.3.1 Colocación de discos

Se consideró diferentes concentraciones de polifenoles microencapsulados (800 mg/ml, 1000 mg/ml, 1200 mg/ml y extracto concentrado sin microencapsular), los discos de 6mm de diámetro se suspendieron en cada concentración de polifenoles y con una pinza se insertó uniformemente los 4 tratamientos sobre la placa con el hongo suspendido. El análisis se realizó por triplicado, como se puede visualizar en la **Tabla 11-12 (Nechifor et al., 2025)**.

2.2.3.3.2 Tratamientos experimentales.

Los tratamientos experimentales se detallan en la **Tabla 11,** para *Fusarium* spp. y en la **Tabla 12,** se describen los tratamientos para la *Botrytis* spp**.**

Tabla 11.

Tratamientos para Fusarium spp.

Concentración de polifenoles de orujo de uva micro encapsulado	Tratamiento	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3
C1: 800 mg/ml	FS1	FS1R1	FS1R2	FS1R3
C2: 1000 mg/ml	FS1	FS2R1	FS2R2	FS2R3
C3: 1200 mg/ml	FS1	FS3R1	FS3R2	FS3R3
C4:Extracto Orujo de uva	FS1	FS4R1	FS4R2	FS4R3

Nota: Elaboración propia.

Tabla 12.

Tratamientos para Botrytis spp.

Concentración de polifenoles de orujo de uva micro encapsulado	Tratamiento	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3
C1: 50 mg/ml	BS1	BS1R1	BS1R2	BS1R3
C2: 100 mg/ml	BS2	BS2R1	BS2R2	BS2R3
C3: 150 mg/ml	BS3	BS3R1	BS3R2	BS3R3
C4: Extracto Orujo de Uva	BS4	BS4R1	BS4R2	BS4R3

Nota: Elaboración propia.

Los tratamientos fueron incubados a 27 °C, por 7 días y diariamente se fue midiendo los halos de inhibición.

2.2.3.4 Prueba de inhibición del crecimiento micelial.

Los halos de inhibición se clasificaron en base a la Escala de Duraffourd: nula, sensible, muy sensible y sumamente sensible, como se indica en la **Tabla 13 (Nguyen et al.,2026)**.

Tabla 13.

Escala de Duraffourd.

Inhibición	Símbolo	Diámetro
Nula	-	Menor o igual a 8 mm
Sensible	+	9 a 14 mm
Muy sensible	++	15 – 19 mm
Sumamente sensible	+++	Mayor o igual a 20 mm

Nota: Elaboración propia.

2.2.3.5 Diseño experimental de la actividad antifúngica.

Se aplicó el Diseño factorial AxB, con dos controles negativos, dos positivos y 3 réplicas por cada tratamiento. La intención fue evaluar las diferencias significativas entre los halos de inhibición de los tratamientos respecto a la concentración de microencapsulados de polifenoles y el tipo de hongo fitopatógeno. En la **Tabla 14** se observa el detalle.

Tabla 14.

Diseño factorial AxB.

Tratamiento	Combinación	Hongo	Tratamiento antifúngico
T1	A1B1	*Fusarium* spp.	Control +
T2	A1B2	*Fusarium* spp.	Control -
T3	A1B3	*Fusarium* spp.	800 mg/ml
T4	A1B4	*Fusarium* spp.	1000 mg/ml
T5	A1B5	*Fusarium* spp.	1200 mg/ml
T6	A1B6	*Fusarium* spp.	Extracto concentrado
T7	A2B1	*Botrytis* spp.	Control +
T8	A2B2	*Botrytis* spp.	Control -
T9	A2B3	*Botrytis* spp.	800 mg/ml
T10	A2B4	*Botrytis* spp.	1000 mg/ml
T11	A2B5	*Botrytis* spp.	1200 mg/ml
T12	A2B6	*Botrytis* spp.	Extracto concentrado

Nota: Elaboración propia. Donde: A1; *Fusarium* spp., A2; *Botrytis* spp., B1; Control (+), B2; Control (-), B3; 800 mg/ml, B4; 1000 mg/ml, B5;1200 mg/ml, B6; Extracto concentrado.

El análisis estadístico se realizó en la herramienta Excel y en el Software de análisis de datos STATGRAPHICS.

2.2.3.6 Delimitación de variables e hipótesis.

Variables:

- **Variable dependiente:** diámetro del halo de inhibición antifúngica (mm).
- **Variable independiente:** tipo de hongo – concentración de polifenoles de orujo de uva.

Hipótesis:

- **Ho:** No existe interacción significativa entre el tipo de hongo y el tratamiento antifúngico sobre la actividad antifúngica.
- **Ha:** Existe interacción significativa entre el tipo de hongo y el tratamiento antifúngico sobre la actividad antifúngica.

CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis y discusión de los resultados.

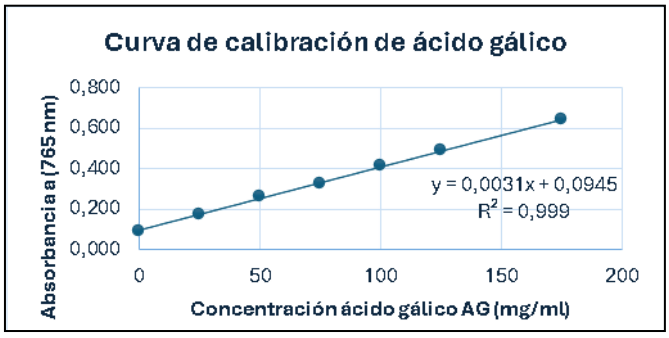
3.1.1 Determinación del contenido de polifenoles del extracto obtenido a partir de orujo de *Vitis vinifera* L., mediante el ensayo colorimétrico Folin–Ciocalteu.

3.1.1.1 Extracción y cuantificación de polifenoles con solución agua – etanol.

Para la cuantificación de polifenoles se utilizó la ecuación de la recta de la curva de calibración del ácido gálico. La ecuación se puede visualizar en la **Figura 2.**

Figura 2.

Curva de calibración del ácido gálico.



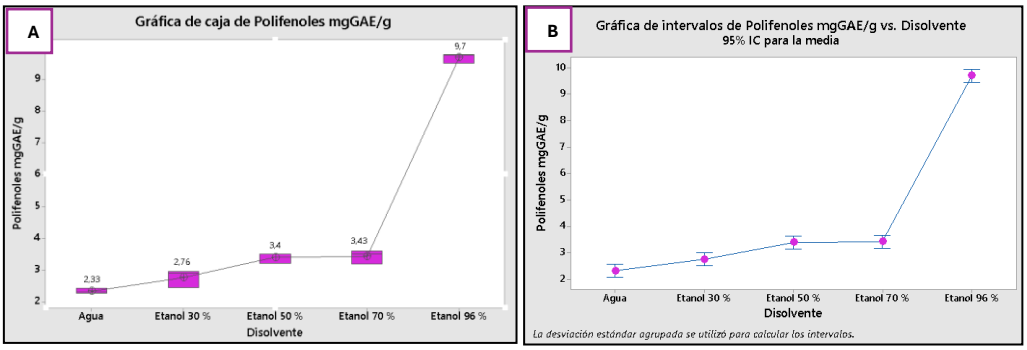
Nota: Elaboración propia. Obtenido de: Software Excel.

La curva se construyó utilizando una calibración de 7 puntos (0, 25, 50, 75, 100, 125 y 175 mg/ml), las respuestas se ajustaron a una línea recta con un R^2 altamente significativo de 0.999%, con una medición espectrofotométrica de 760 nm. **Bastola et al. (2017),** el estándar de ácido gálico es comúnmente utilizado por su bajo costo, alta estabilidad en su forma seca y solubilidad en agua. Además, proporciona una estimación más precisa de fenoles con respecto a otros estándares fenólicos ya que posee tres grupos hidroxilos fenólicos. Si un estándar posee menos grupos fenólicos, el porcentaje de error disminuye debido a las interacciones de los fenoles y el complejo metálico del reactivo Folin – Ciocalteu, que pueden producir absorciones bajas o más altas dependiendo del sinergismo negativo en la donación de electrones.

En la **Figura 3,** se puede visualizar la cuantificación de polifenoles después de la extracción sólido – líquido con diferentes concentraciones de agua - etanol.

Figura 3.

Análisis estadístico para seleccionar el mejor disolvente de extracción de polifenoles.



Nota: Elaboración propia. Obtenido de: Software estadístico Minitab aplicado el Diseño Factorial Unifactorial.

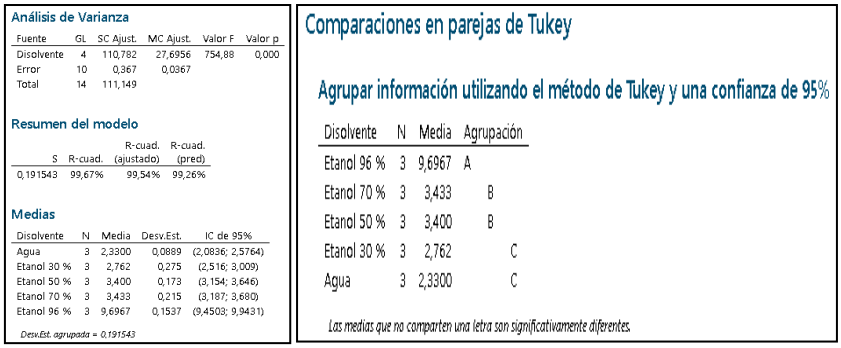
En la **Figura 3A,** se observa que el disolvente menos concentrado, etanol 30% y el agua, extraen cantidades no significativas de polifenoles. Sin embargo, el etanol al 96%, tiene mejor rendimiento de extracción, seguidamente del etanol al 70%. **Moutinho et al. (2023),** la capacidad de extracción de compuestos fenólicos está estrechamente relacionada con la elección del tipo de disolvente y la eficiencia de extracción. El etanol, es un disolvente orgánico seguro y ecológico para extraer altos porcentajes de fenoles. En su estudio, el etanol al 70%, pH 3,5 y 60 °C, permitió obtener alto contenido de polifenoles del orujo de uva. Además, menciona que una mezcla de etanol – agua, ofrece una mayor eficiencia de extracción, es decir, el agua actúa de tal modo que el tejido celular se vuelve más permeable y favorece la extracción, aunque resulta ineficaz a temperaturas bajas. Así mismo, recalca que, a altos porcentajes de etanol, mayor concentración de fenoles. De este modo, se justifica que la extracción con etanol concentrado al 96% a temperatura ambiente (25 °C), alojó mejores resultados que la combinación agua – etanol, donde no se aplicó presión de temperaturas, por lo que se obtuvo menor concentración del compuesto activo.

Castilla et al. (2019), la concentración óptima de etanol depende de cada familia de polifenoles, específicamente de su estructura química y de su polaridad. Los ácidos fenólicos son recuperados mayoritariamente a concentraciones altas de etanol y los ácidos clorogénicos presentan un rendimiento bajo a esa condición, debido a que en su estructura se presenta diversos grupos carbonilos con respecto a otros ácidos fenólicos. Por otra parte, los polifenoles del orujo de uva poseen una polaridad intermedia o anfipática, porque su estructura posee anillos aromáticos apolares y grupos hidroxilos polares.

En la **Figura 4,** se muestra el análisis estadístico de los disolventes empleados en la extracción de polifenoles con pruebas como; el análisis ANOVA, junto con la prueba Tukey.

Figura 4.

Análisis estadístico. Diseño Factorial Unifactorial.



Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Disolvente	4	110,782	27,6956	754,88	0,000
Error	10	0,367	0,0367		
Total	14	111,149			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0,191543	99,67%	99,54%	99,26%

Medias

Disolvente	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Agua	3	2,3300	0,0889	(2,0836; 2,5764)
Etanol 30 %	3	2,762	0,275	(2,516; 3,009)
Etanol 50 %	3	3,400	0,173	(3,154; 3,646)
Etanol 70 %	3	3,433	0,215	(3,187; 3,680)
Etanol 96 %	3	9,6967	0,1537	(9,4503; 9,9431)

Desv.Est. agrupada = 0,191543

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Disolvente	N	Media	Agrupación		
Etanol 96 %	3	9,6967	A		
Etanol 70 %	3	3,433		B	
Etanol 50 %	3	3,400		B	
Etanol 30 %	3	2,762			C
Agua	3	2,3300			C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Nota: Elaboración propia. Obtenido de: Software estadístico Minitab.

En el análisis de Varianza se observa un valor *p* de 0,000, por lo que existen diferencias significativas, es decir, el tipo del disolvente influye significativamente en la extracción de polifenoles del orujo de uva. Además, el R^2 muestra un porcentaje de confianza extremadamente alto de 99,67%, por lo que es diseño confiable y reproducible. Por otra parte, en el análisis Tukey, el etanol al 96% es significativamente mayor a los demás disolventes, por ende, presenta mayor capacidad extractiva. Sin embargo, el etanol al 50% y 70%, no tienen diferencias estadísticas y se comportan de manera similar, al igual que el etanol 30% con el agua **(Ver Figura 3B)** ,con un intervalo de confianza del 95%. De esta manera el etanol al 96%, es la mejor alternativa para extraer polifenoles de orujo de uva sobre todo compuestos lipofílicos como; agliconas, isoflavonas y flavonas que poseen una polaridad baja **(Castilla et al., 2019)**.

3.1.1.2 Diseño experimental 3^2.

Al seleccionar al etanol de 96% como mejor disolvente de extracción, se aplicó el diseño factorial 3^2, donde la variable dependiente es la concentración de polifenoles y la independiente la relación sólido – líquido y tiempo. Los resultados obtenidos se pueden visualizar en el **Tabla 15.**

Tabla 15.

Diseño Factorial 32, aplicado en la extracción de polifenoles.

Tratamiento	Relación	Tiempo	Polifenoles (mgGAE/g)
1	1:15	30	7,57 ± 0
2	1:15	45	8,31 ± 0
3	1:15	60	7,87 ± 0,33
4	1:20	30	$5,50 \pm 1,08\times10^{-15}$
5	1:20	45	$5,36 \pm 1,08\times10^{-15}$
6	1:20	60	$5,92 \pm 1,08\times10^{-15}$
7	1:25	30	4,55 ± 0
8	1:25	45	4,73 ± 0
9	1:25	60	4,91 ± 0

Nota: Elaboración propia.

Tras la cuantificación de compuestos fenólicos se realizó el análisis estadístico en el software de análisis de datos Statgraphics. Al realizar la tabulación de datos se obtuvo el análisis de Varianza de Polifenoles **(Ver Tabla 16).**

Tabla 16.

Análisis de Varianza para Polifenoles.

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Relación	45,7223	1	45,7223	767,66	0,0000
B: Tiempo	0,58392	1	0,58392	9,80	0,0055
AA	3,19545	1	3,19545	53,65	0,0000
AB	0,00229633	1	0,00229633	0,04	0,8464
BB	0,0386136	1	0,0386136	0,65	0,4307
Bloques	0,0250045	2	0,0125023	0,21	0,8125

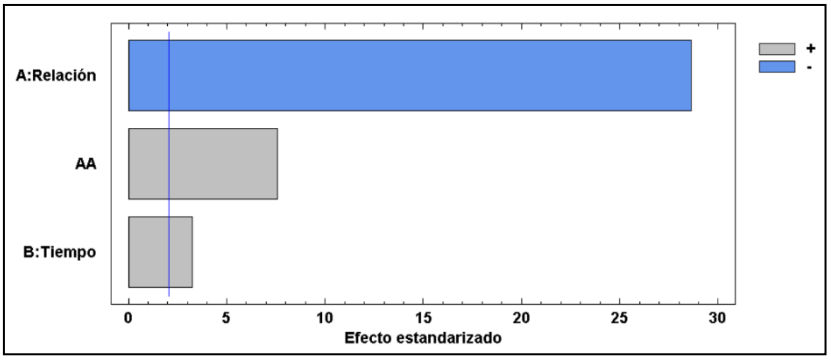
Error total	1,13165	19	0,0595608
Total (corr.)	50,6992	26	

Nota: Elaboración propia. El análisis estadístico muestra un R^2=97,769% y un porcentaje de error absoluto medio de 0,166586.

De acuerdo con el análisis ANOVA se destaca el R^2 de 97,769% y el error absoluto de 0,17%, los mismos muestran una buena precisión predictiva del diseño. Con respecto al nivel de significancia tanto la interacción A, B, AA, y BB, tienen efecto significativo sobre la extracción de polifenoles por el contrario la interacción AB y Bloques, no tuvo efecto significativo sobre la variable dependiente. En la **Figura 5,** se destacan los efectos significativos sobre la variable de respuesta.

Figura 5.

Diagrama de Pareto estandarizado para Polifenoles.



Nota: Elaboración propia. Obtenido de:Software de análisis de datos Statgraphics.

Los efectos significativos vistos en el diagrama de Pareto de efectos estandarizados muestran que la interacción A (sólido – líquido), tiene un efecto significativo muy alto con respecto a la interacción cuadrática AA y el tiempo, aunque con menor intensidad que la interacción A. En la interacción A, la cantidad de disolvente disponible, la gradiente concentración y la transferencia de masa influyeron significativamente en la liberación y solubilización de compuestos fenólicos, pero al tener un efecto negativo dominante, la mejor extracción de polifenoles ocurrió en los niveles inferiores. En el caso de la interacción cuadrática AA y la interacción B (tiempo), el efecto fue positivo, es decir que, a mayor tiempo mayor extracción.

En la **Tabla 17,** se puede visualizar la respuesta óptima del diseño experimental aplicado la evaluación de polifenoles del orujo de uva.

Tabla 17.

Optimización de respuesta.

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Relación	15,0	25,0	15,0
Tiempo	30,0	60,0	60,0

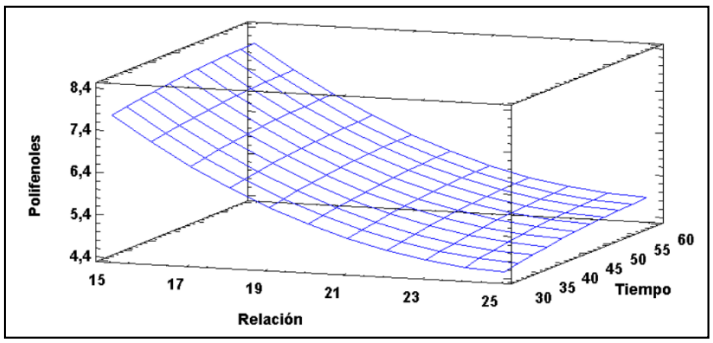
Nota: Elaboración propia.

Según **Moutinho et al. (2023),** por el método de maceración, al aumentar la relación sólido – disolvente, incrementa el rendimiento de compuestos fenólicos, pero solo hasta la combinación 1:20, por lo contrario, si la relación es 1:60, el rendimiento de extracción disminuye. La relación 1:15, permitió diluir polifenoles ya que el etanol estuvo muy concentrado y penetró con facilidad la pared del orujo de uva. Sin embargo, si la relación es más alta se pueden extraer otros compuestos no fenólicos como ácidos orgánicos, azúcares, etc. Por otra parte, a mayor tiempo de extracción mejor recuperación de polifenoles debido a una mayor penetración del disolvente que permite la solubilidad y difusión de compuestos fenólicos pero un mayor tiempo de extracción puede implicar oxidación fenólica.

En base a la superficie de respuesta de la **Figura 6,** se puede observar que a bajas relaciones sólido–líquido, se extraen mejor los polifenoles del orujo de uva y a altas concentraciones sólido-líquido el rendimiento de extracción es bajo. Por otra parte, a mayor tiempo de extracción, la recuperación de polifenoles es más significativa, de esta manera se corrobora la información mencionada en el diagrama de Pareto estandarizado.

Figura 6.

Superficie de respuesta estimada.



Nota: Elaboración propia. Obtenido de: Software de análisis de datos Statgraphics.

Asimismo, la **Figura 6,** muestra los efectos de interacción de las variables independientes; relación sólido – líquido y tiempo, sobre la variable dependiente: extracción de polifenoles. La interacción entre el tiempo y concentración de polifenoles, varía según el tiempo de exposición del material, en este caso

el tiempo óptimo fue de 60 minutos y la interacción significativa de relación sólido – líquido, fue a bajas concentraciones sólido líquido 1:15, donde se pudo extraer un total de 7,87 ± 0,33 mgGAE/g. **Balan et al. (2025),** valida estos resultado con su estudio y demuestra que las condiciones óptimas de extracción de polifenoles fue en la relación baja sólido – líquido 1:20 a un tiempo de 60 minutos, logrando extraer un total de 427 mgGAE/g. **Paixao et al. (2018),** el contenido de compuestos fenólicos varía dependiendo de la variedad de uva, las técnica de producción del vino y de los factores ambientales. En su estudio, plantea que el contenido de fenoles es mayor en el orujo de uva tinta ya que posee entre 30 – 70 mgGAE/g, seguido por el orujo rosado con 15 – 35 mgGAE/g y finalmente la blanca con 10,25 mgGAE/g.

3.1.1.3 Determinación de sólidos totales.

3.1.1.3.1 Sólidos totales del polvo de orujo de uva.

En la **Tabla 18,** se muestra que el porcentaje de sólidos totales del orujo de uva fue de 95,38%, es decir que el producto está altamente deshidratado y garantiza que el producto es de alta calidad y muestra buena estabilidad.

Tabla 18.

Porcentaje de sólidos totales del polvo de orujo de uva.

Peso inicial (g)	Peso final (g)	% Sólidos Totales
1.91	4,62	95,38

Nota: Elaboración propia.

Con el 95,38% de sólidos totales, se tiene el 4,62% de humedad. Tener menos del 5% de agua, es un porcentaje óptimo para que los microorganismos no puedan proliferar. **Lee et al. (2018),** el contenido de humedad bajo facilita la fluidez del polvo y ofrece un mayor rendimiento del proceso. Entonces, el contenido de humedad en polvos no debe exceder el 5% ya que puede causar la pegajosidad.

3.1.1.3.2 Sólidos totales del extracto concentrado de polifenoles de orujo de uva para microencapsular.

En la **Tabla 19,** se visualiza el porcentaje de sólidos totales con el que se trabajó en el proceso de microencapsulación.

Tabla 19.

Porcentaje de sólidos totales del extracto líquido de orujo de uva concentrado.

Peso inicial (g)	Peso final (g)	% Humedad	% Sólidos Totales
0,699	0,258	63,09	36,91

Nota: Elaboración propia.

Nguyen et al. (2017), la concentración de sólidos totales para alimentar el secador de aspersión es un parámetro determinante porque influye en la formación de partículas, el rendimiento del polvo, la humedad final y la viscosidad. En su estudio, trabajó con el 42,5% de sólidos totales y obtuvo un polvo altamente estable. Por lo tanto, en la alimentación del secado por aspersión, la concentración de sólidos debe ser alta para favorecer los parámetros antes descritos. Así mismo, **Silva et al. (2013),** optimizaron trabajar con el 30% de sólidos totales.

3.1.2 Desarrollo de un microencapsulado de polifenoles de *Vitis vinifera* L., mediante secado por aspersión.

3.1.2.1 Caracterización del extracto antes del secado.

Los extractos que fueron añadidos a las soluciones del combinado; maltodextrina + goma arábiga y la maltodextrina, antes del secado por aspersión tenía una concentración de polifenoles totales de 118,45 mgGAE/g, en un volumen total de 75 ml.

3.1.2.2 Análisis cuantitativo de microencapsulación de polifenoles de orujo de uva.

En la **Tabla 20,** se observan los resultados de la eficiencia y rendimiento de microencapsulación con la pared microencapsulante: maltodextrina (MD) y en la **Tabla 21,** se observan los resultados de la eficiencia y rendimiento de microencapsulación del combinado; maltodextrina + goma arábiga (MD + GA).

Tabla 20.

Eficiencia y rendimiento de microencapsulación maltodextrina.

Muestra	Concentraciones (mgGAE/L)	Rendimiento (%)	Eficiencia (%)
MD + Agua	23,69	77,89	82,64

MD + Etanol	4,11

Nota: Elaboración propia. Muestras necesarias para el cálculo de la eficiencia y rendimiento de microencapsulación. Uso de agua destilada y etanol absoluto en una relación 1:10.

Tabla 21.

Eficiencia y rendimiento de microencapsulación Maltodextrina + Goma arábiga.

Muestra	Concentraciones (mgGAE/L)	Rendimiento (%)	Eficiencia (%)
MDGA + Agua	23,69	74,50	77,82
MDGA + Etanol	4,11		

Nota: Elaboración propia. Muestras necesarias para el cálculo de la eficiencia y rendimiento de microencapsulación. Uso de agua destilada y etanol al absoluto en una relación 1:10.

Como agentes encapsulantes se seleccionó la maltodextrina y el combinado; maltodextrina + goma arábiga, debido a su baja toxicidad, viscosidad y alta solubilidad. La temperatura de entrada fue de 150 °C y la de salida de 80 °C, aplicando una relación 20:80, donde el 20% representa a 20 ml del extracto y 80%, los gramos del polímero. A las condiciones prescritas, se obtuvo una máxima eficiencia de microencapsulación y de rendimiento. Para la maltodextrina valores superiores al combinado MDGA de 82, 64 % de eficiencia y rendimiento de 77,89% sin embargo, la eficiencia de microencapsulación de MDGA fue bajo con 77,82% y el rendimiento de 74,50%.

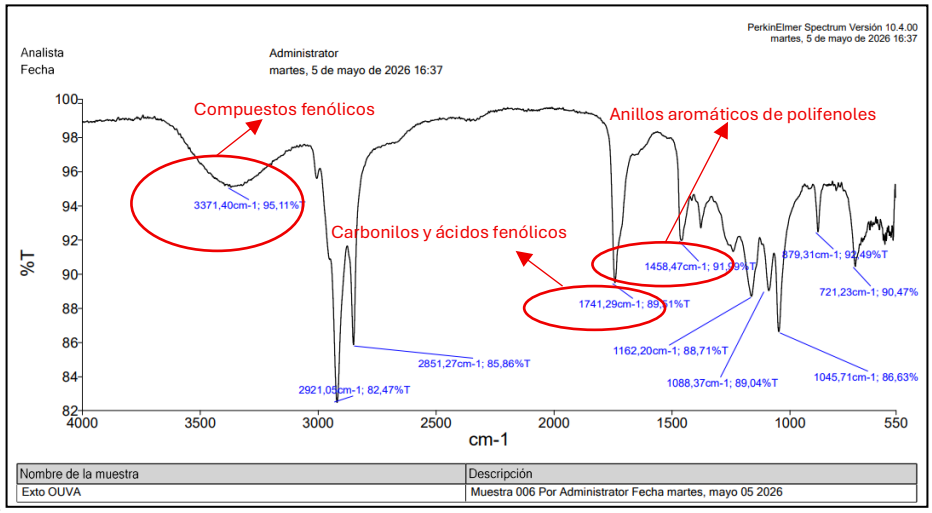
Silva et al. (2013), la temperatura de entrada en el secado por aspersión influye de manera significativa en el rendimiento de microencapsulación. A una temperatura de entrada baja, el producto no alcanza un secado adecuado además de inducir la aglomeración del producto final. **Tolun et al. (2016),** el rendimiento y la eficiencia de microencapsulación, aumenta al incrementar la temperatura, esto debido a la transferencia de calor y masa. En su estudio, el material de recubrimiento maltodextrina, alojó un rendimiento de microencapsulación superior a la combinación; maltodextrina + goma arábiga, con un rendimiento de que varía entre 44,7 y 64,9%, mientras que la combinación MDGA, presentó rendimientos de 42,6% y 59,5% a una temperatura de entrada de 180° C.

3.1.2.3 Análisis cualitativo de microencapsulación de polifenoles de orujo de uva por espectroscopia infrarroja (FTIR).

En la **Figura 7,** se evidencian los espectros de la muestra del extracto de orujo de uva en rangos de onda entre 4000 y 550 cm^{-1}.

Figura 7.

Espectrometría infrarroja del extracto orujo de uva concentrado.



Nota: Elaboración propia. El eje de las x representa el número de onda (cm^{-1}) y el eje de las y la transmitancia (%T).

Machado et al. (2024), la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier proporciona espectros característicos de los constituyentes químicos relacionados a la muestra analizada de tal manera que delimita la elongación, flexión y modos vibracionales moleculares. Dentro del rango espectral 4000 y 550 cm^{-1} de la **Figura 7,** se aprecian diversos picos discernibles, cada uno relacionado con grupos funcionales específicos. En la **Tabla 22,** se puede visualizar una guía de los grupos funcionales en función de los picos de longitud de onda.

Tabla 22.

Bandas FTIR relacionadas con grupos funcionales presentes en la matriz del orujo de uva.

Pico aproximado cm^{-1}	Grupo funcional	Polifenoles asociados
3255,55 con transmitancia de 58,38%	OH	Compuestos fenólicos o alcoholes.
3294	OH	Grupos hidroxilo de alcoholes y fenoles (azúcares y fenoles).

2978	CH_2	Lípidos o ligninas.
2936 con transmitancia de 73,93%	CH	Compuestos aromáticos.
2121,59 con transmitancia de 97,35%	C=C	Terpenoides y alquenos.
1636	C=O	Éster, ácidos grasos, glicéridos, pectinas, ligninas, taninos
1636	C=C	Lignina, taninos.
1577,71 con transmitancia de 57,39%	Estructura aromática	Flavonoides.
1402,32 con transmitancia de 68,26%	COO	Ácido carboxilo
	CH	Metilo
1261,45 con transmitancia de 85,04%	CO	Alcaloides y glicosídicos
1090	C-OC	Lignina, sacáridos
1054,61 con transmitancia de 52,61	C-O-C	Saponina
1046	C-O	Éster.
880	R=CH	Cis-trans.
867,86 con transmitancia de 95,82%		
777,46 con transmitancia de 91,30		Anillo aromático, ácidos fenólicos, ésteres, carbonilos.
615,33 con transmitancia de 83,13%		
519,19 con transmitancia de 82,02%		Minerales u otros elementos que requieren análisis riguroso.

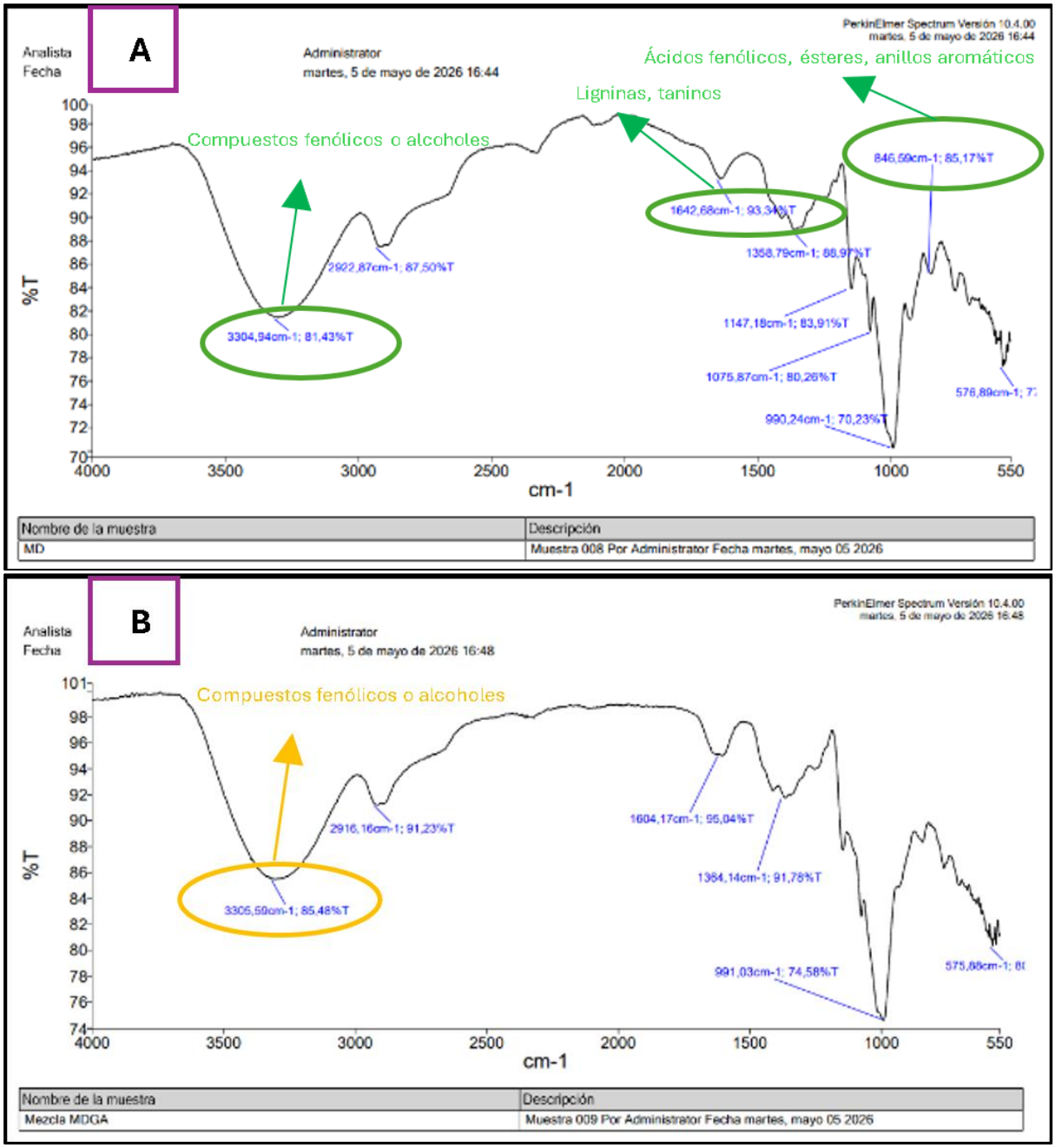
Nota: Elaboración propia. Obtenido de: **(Wulo et al., 2025).**

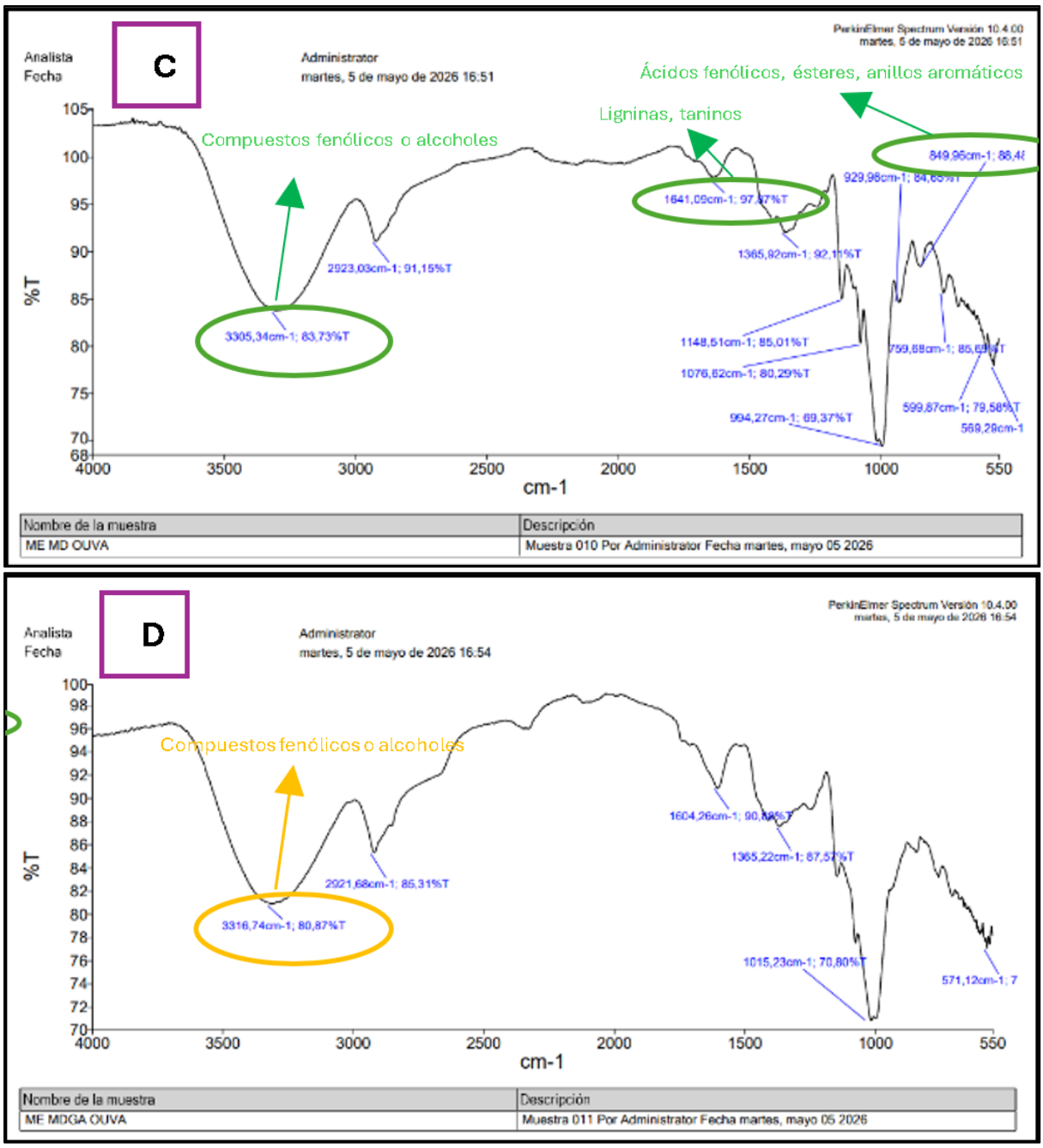
De con la información prescrita en la **Tabla 22,** y según los picos expresados en la **Figura 7,** se puede identificar que la longitud de onda de 3371, 40 cm^{-1}, y transmitancia de 95,11%, se ven expresados los compuestos fenólicos, a una longitud de onda de 1741,29 cm^{-1} con transmitancia de 89,51% se expresan los carbonilos y ácidos fenólicos y a 1458,47 cm^{-1} con transmitancia de 91,99% se identifican los anillos aromáticos de polifenoles.

En la **Figura 8,** se identifican los picos expresados por los agentes encapsulantes tanto para la MD **(F.8A)** como para el combinado MDGA **(F.8B).** Asimismo, las microesferas de orujo de uva con su respectivo agente encapsulante.

Figura 8.

Espectrometría infrarroja de los agentes encapsulantes y las microesferas de MD y MDGA de orujo de uva.





Nota: Elaboración propia. En la Figura A, se visualiza los espectros de la maltodextrina y en la Figura B, los espectros dado por la combinación de maltodextrina y goma arábiga. En la Figura C, se muestran las microesferas de maltodextrina de orujo de uva y en la Figura D, las microesferas de maltodextrina y goma arábiga de orujo de uva.

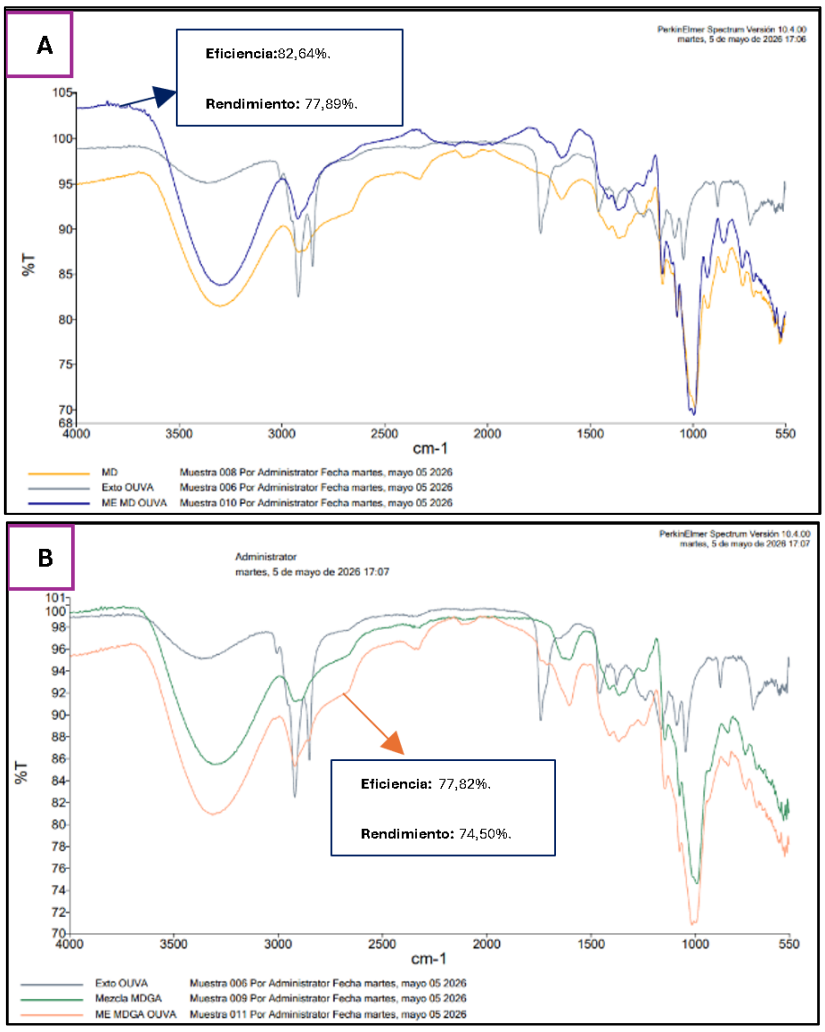
En base a la **Figura 8,** se corrobora los resultados cuantitativos de la eficiencia y rendimiento de microencapsulación obtenidos en el punto **3.1.2.2,** debido a que la microencapsulación con la maltodextrina muestra una mejor expresión de polifenoles con respecto al combinado maltodextrina más goma arábiga, como se puede visualizar en la **Figura 8A** y **8C.** Sin embargo, en la **Figura 8B** y **8D,** maltodextrina más goma arábiga, se observa una expresión reducida de los picos de los grupos funcionales. Por otra parte, al contrastar la **Figura 7** con la **Figura 8**, se puede evidenciar que con la

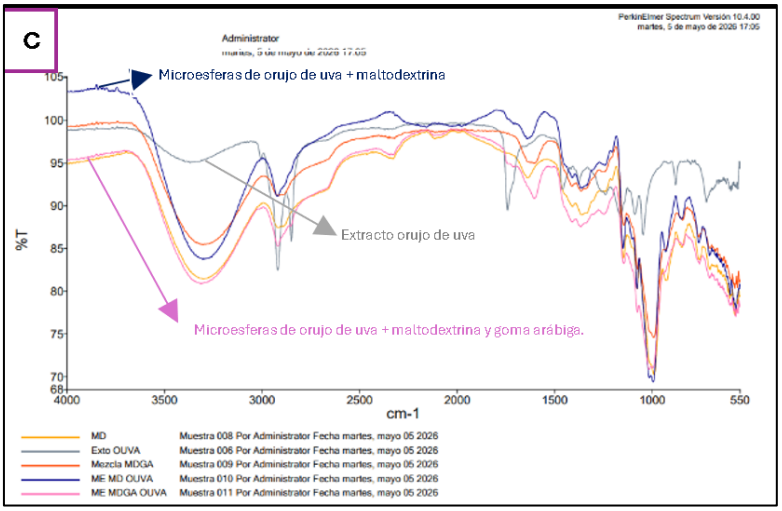
maltodextrina se mantuvo estructuralmente estable tras el secado. Sin embargo, para el combinado MDGA se degradó los compuestos activos, por lo que la red encapsulante es menos compleja que la maltodextrina donde se visualiza la complejidad de la red.

Tolun et al. (2016), el mayor rendimiento de microencapsulación se obtiene al aplicar la relación MD:GA 10:0 a 180 °C, entonces la variación entre este estudio y el de **Tolun et al., (2016),** puede ser el resultado de las proporciones diferentes de la mezcla y el recubrimiento.

Figura 9.

Espectrometría infrarroja del orujo de uva superpuesto con los polímeros.





Nota: Elaboración propia. En la Figura A, se visualiza los espectros de la superposición entre la maltodextrina (MD), extracto de orujo de uva, microesferas de MD de orujo de uva. En la Figura B, el extracto de orujo de uva, las paredes encapsulantes maltodextrina y goma arábiga (MDGA) y las microesferas de MDGA de orujo de uva y en la Figura C, la superposición del extracto de orujo de uva, los agentes encapsulantes MD - MDGA+ Microesferas de orujo de uva con MD y las microesferas de orujo de uva con MDGA.

En la **Figura 9,** se puede corroborar la eficiencia de microencapsulación cuantitativa con la cualitativa, donde la maltodextrina muestra mejores resultados que la combinación; maltodextrina más goma arábiga. Especialmente en la **Figura 9C,** se muestra que maltodextrina esta sobre la línea del extracto de orujo de uva y el combinado MDGA, por debajo de los picos del extracto.

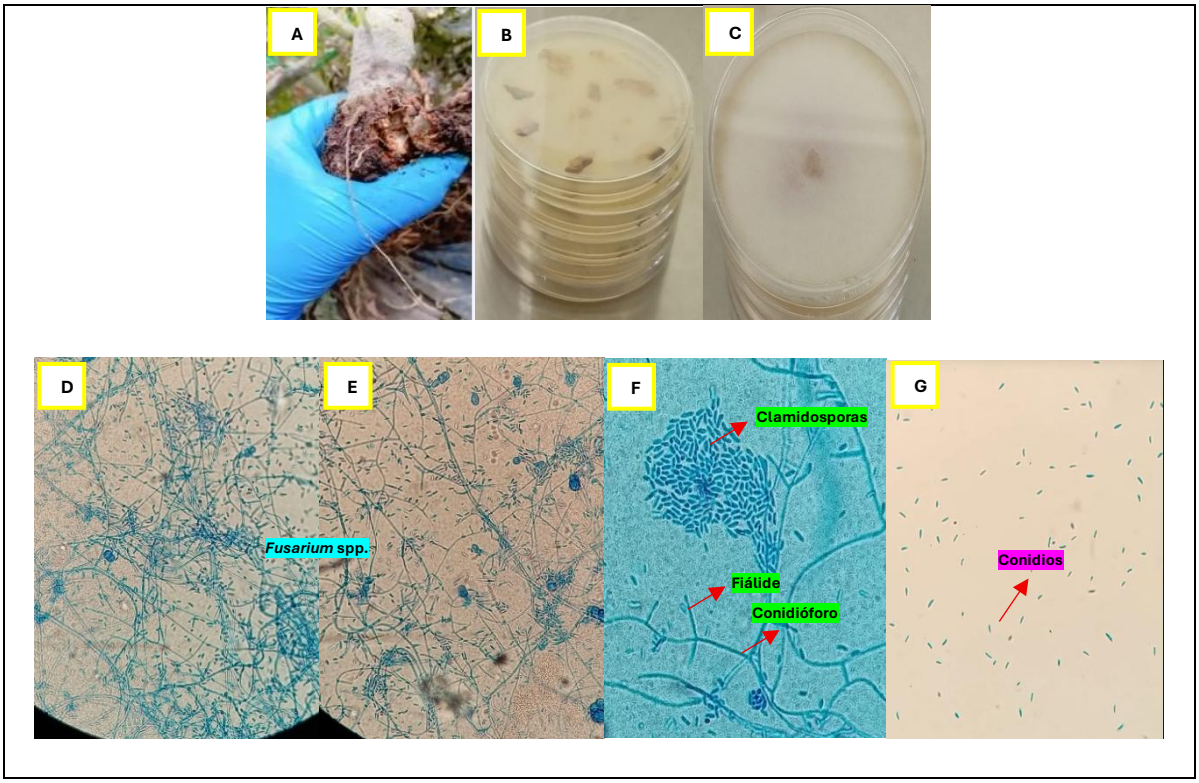
3.1.3 Evaluación de la actividad antifúngica *in vitro* de los polifenoles microencapsulados de orujo de uva frente a *Botrytis* spp. y *Fusarium* spp.

3.1.3.1 Aislamiento y purificación de fitopatógenos de tomate de riñón.

El aislamiento de *Botrytis* spp. y *Fusarium* spp., se realizó al trascurrir los 5 días de incubación a 27 °C. La purificación se realizó 7 días posteriores al aislamiento. En la **Figura 10,** se puede visualizar los resultados obtenidos para *Fusarium* spp. y en la **Figura 11** los resultados con respecto a *Botrytis* spp.

Figura 10.

Aislamiento y purificación de Fusarium spp. de tomate de riñón.

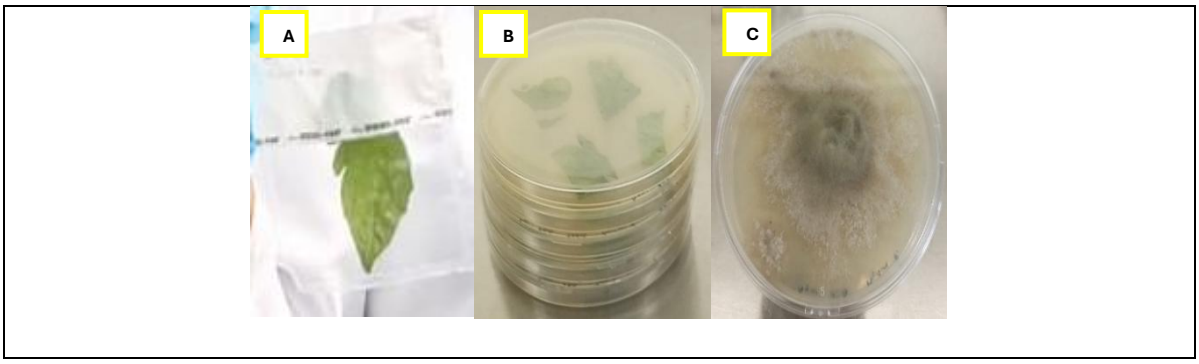


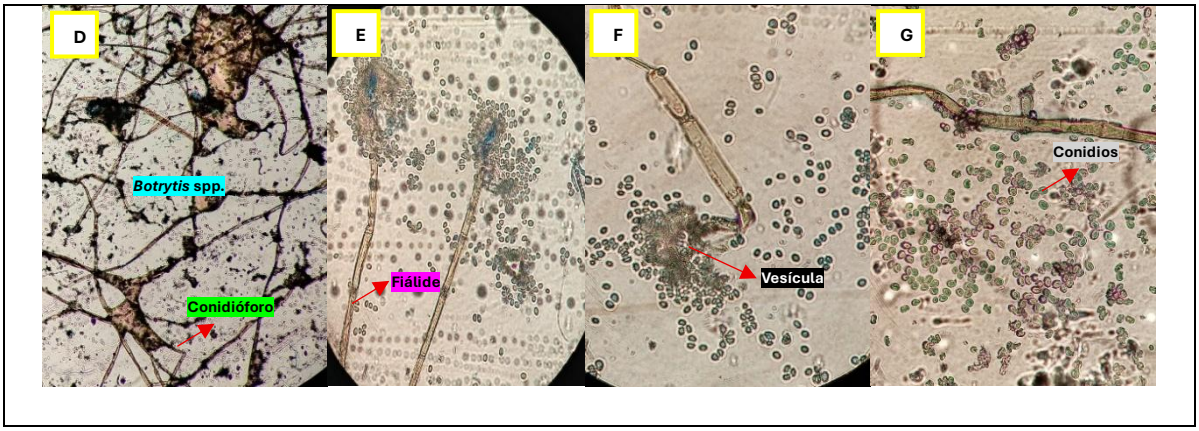
Nota: Elaboración propia.

Sindhura et al. (2024), en una investigación el proceso de aislamiento constituye un paso fundamental para realizar un análisis morfológico y molecular ya que permite saber si en realidad se trata de *Fusarium* spp. En la **Figura 10C,** se muestra la morfología típica de *Fusarium* spp., sobre todo por la capa blanquecina con la base de color rosa. Mediante la observación microscópica se puede corroborar las características fenotícas del hongo, en la **Figura 10 D,E,F,G,** se observan conidióforos ramificados que sobresalen del micelio. Los conidios salen de los conidióforos siendo unicelulares, de pigmentación distintiva y forma elipsoidal, incluso los microconidios o conidios son ovalados, no septados, delgados que nacen de fiálides de 2,5 a 3µm y los macroconidios son más grandes que los conidios en forma de hoz o falciformes con tres septos.

Figura 11.

Aislamiento y purificación de Botrytis spp. de tomate de riñón.





Nota: Elaboración propia.

Duckena et al. (2024), la colonia de *Botrytis* spp. varía entre blanco, blanco grisáceo, marrón, marrón grisáceo y gris. Microscópicamente, se puede observar largos conidióforos en forma de árbol ramificados con su terminación de racimos de varios conidios unicelulares. Los conidióforos, son de color marrón claro , poseen hifas largas, septadas y erectas, se ramifican irregularmente y su terminación es en grandes vesículas. Por otro lado, los conidios de forma ovoide o elipsoidal son unicelulares que oscilan entre los 10 – 12 µm y se agrupan en racimos de uvas. De esta manera con la información prescrita se puede corroborar los resultados obtenidos, ya que **Sindhura et al. (2024)** y **Duckena et al. (2024),** describen en su estudio la misma morfología fenotípica y microscópica de *Fusarium* spp., y *Botrytis* spp.

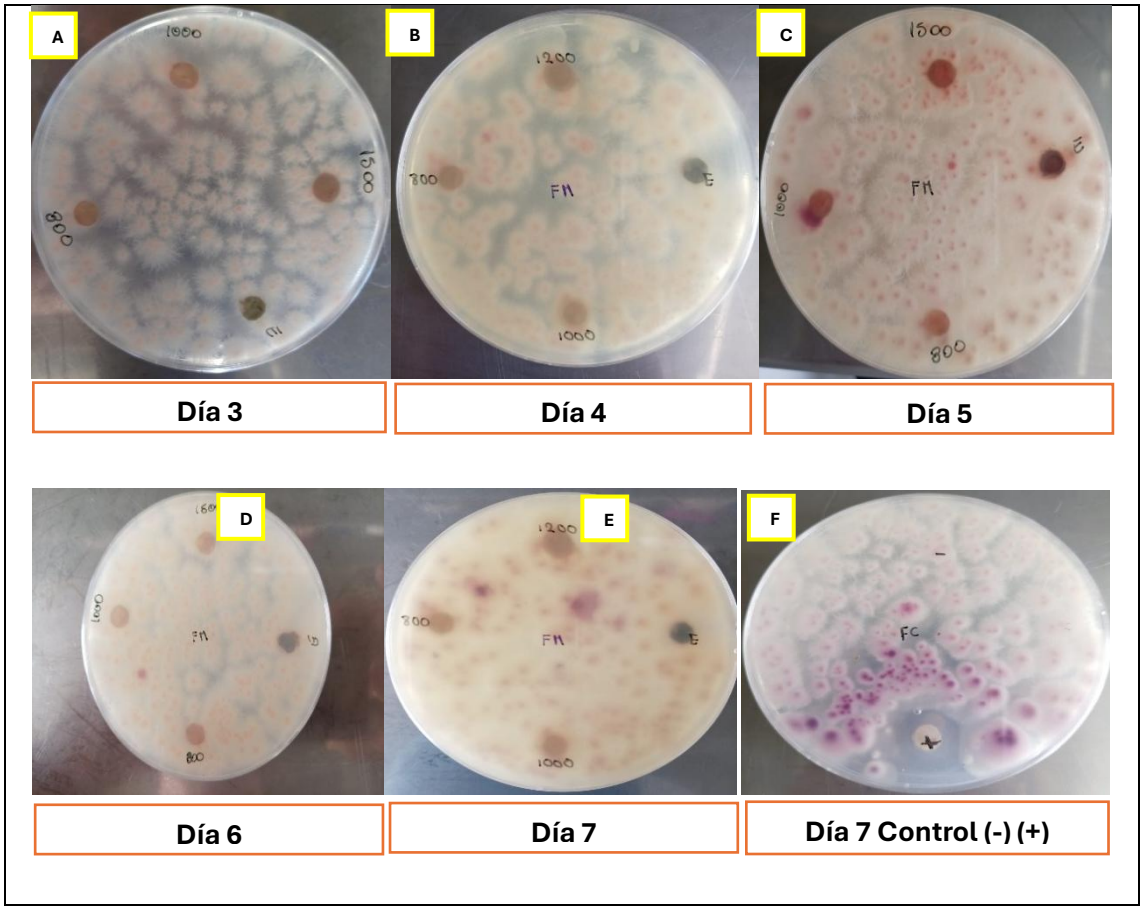
3.1.3.2 Pruebas *in vitro* del antagonismo de microencapsulados de polifenoles de orujo de uva frente a *Botrytis* spp., y *Fusarium* spp.

3.1.3.2.1 Análisis de inhibición antifúngica dada por la prueba de sensibilidad con discos en papel, escala de Duraffourd.

Mediante el método de difusión en disco o Kirby – Bauer, se pudo evaluar la actividad antifúngica del extracto de orujo de uva frente a *Fusarium* spp. y *Botrytis* spp. En la **Figura 12** y **Figura 13,** se puede visualizar el efecto del extracto microencapsulado de polifenoles a distintas concentraciones frente a los dos hongos fitopatógenos vegetales.

Figura 12.

Prueba de difusión en disco para determinar la actividad antifúngica de polifenoles de orujo de uva frente a Fusarium spp.



Nota. Elaboración propia.

En la evaluación antifúngica de polifenoles frente a *Fusarium* spp., se utilizaron las microesferas de orujo de uva con maltodextrina debido a su alta eficiencia y rendimiento de microencapsulación frente a la combinación; maltodextrina + goma arábiga, mientras que el combinado MDGA fue descartado. **Mutavski et al. (2025),** el rendimiento de microencapsulación con maltodextrina aumenta al 100% pero disminuye a medida que aumenta la proporción de goma arábiga, esto se debe a que la maltodextrina tiene la capacidad de formar rápidamente una matriz alrededor del material objetivo y a través del proceso de secado de aspersión se minimiza la pérdida de compuestos sensibles y volátiles. Sin embargo, la goma arábiga posee propiedades filmógenas lo que conduce a un rendimiento de microencapsulación bajo cuando se usa en proporciones altas.

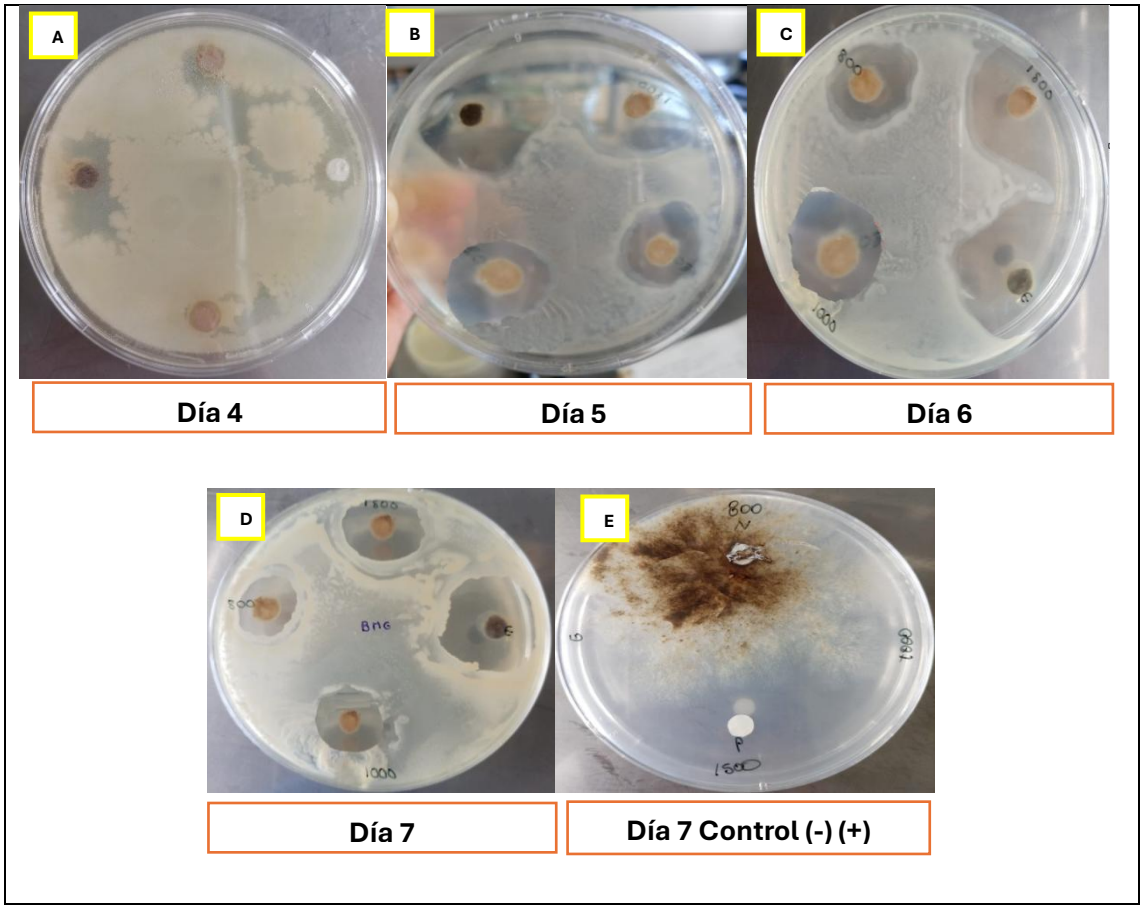
En base a los resultados obtenidos, se evidencia que el tratamiento antifúngico de polifenoles es nulo para el fitopatógeno vegetal *Fusarium* spp. ya que no expresó halos de inhibición a ninguna concentración de polifenoles (800, 1000, 1200 y el extracto concentrado de 118,45 mgGAE/ml). **Alin et al. (2022),** contradice estos resultados ya que, en su estudio, el extracto de orujo de uva mostró un alto porcentaje de inhibición del desarrollo micelial e inhibición de la germinación de esporas. En este caso, los resultados positivos de su estudio puede ser efecto de; método de extracción utilizado (extracción asistida por microondas, MAE), compuestos fenólicos presentes en el extracto (estructuras complejas como: flavanoles, flavonoles y antocianinas o estructuras simples como los ácidos fenólicos).

Asimismo, menciona que la presencia de compuestos fenólicos puede incrementar la permeabilidad celular e inducir la inhibición fúngica. **Alin et al. (2022),** recalca que los mecanismos de inhibición de fitopatógenos varían según, los compuestos fenólicos presentes en el extracto, el hongo y la variedad de uva utilizada.

En la **Figura 13,** se visualiza el efecto de polifenoles del extracto de uva microencapsulado sobre el hongo fitopatógeno *Botrytis* spp.

Figura 13.

Prueba de difusión en disco para determinar la actividad antifúngica de polifenoles de orujo de uva frente a Botrytis spp.



Nota. Elaboración propia.

En la **Figura 13 D,** se muestra que existe efecto antifúngico del extracto de orujo de uva microencapsulado sobre *Botrytis* spp. Según la escala de Duraffourd, los hongos muestran sensibilidad frente a los polifenoles de orujo de uva microencapsulado. **Alin et al. (2022),** el orujo de uva tiene un fuerte efecto fungicida sobre *Botrytis* spp., sobre todo al extraer el compuesto bioactivo con cloroformo, hexano y acetato de etilo. **Mendoza et al. (2013),** el método de extracción afecta la obtención del contenido de compuestos bioactivos, asimismo el disolvente empleado pudiendo ser; etanol, metanol o agua. Incluso, el contenido del compuesto bioactivo depende de la variedad de uva, factores ambientales, tecnología de vinificación, clima o ubicación. En su estudio, el extracto de la variedad de

uva Cabernet, fue el más activo. Por lo contrario, en otro estudio la misma variedad de uva tuvo un efecto menor debido a las condiciones ambientales.

Por otra parte, de acuerdo con la Escala de Duraffourd **(Ver Tabla 13),** los resultados obtenidos se clasificaron como: nula, sensible, muy sensible y sumamente sensible como se puede observar en la **Tabla 23**.

Tabla 23.

Prueba de evaluación antifúngica en base a la Escala de Duraffourd para Fusarium spp.y Botrytis spp.

Tratamientos (mg/ml)	**F1 (mm)**	**F2 (mm)**	**F3 (mm)**	**Promedio (mm)**	**Desviación estándar**	**Resultado**
F Control (+)	9	9,1	9	9,03	9,03±0,05	Sensible
F Control (-)	0	0	0	0	0	Nula
F 800	0	0	0	0	0	Nula
F 1000	0	0	0	0	0	Nula
F 1200	0	0	0	0	0	Nula
F Extracto concentrado	0	0	0	0	0	Nula
Tratamientos (mg/ml)	**B1 (mm)**	**B2 (mm)**	**B3 (mm)**	**Promedio (mm)**	**Desviación estándar**	**Resultado**
B Control (+)	11	11,1	11,1	11,1	11,1±0,1	Sensible
B Control (-)	0	0	0	0	0	Nula
B 800	7	7	7,2	7,17	7,17 ± 0,12	Nula
B 1000	10	10	10,1	10,17	10,17±0,06	Sensible
B 1200	13	13	13	13	13 ± 0	Sensible
B Extracto concentrado	17,1	17,3	17	17,13	17,13±0,15	Sensible

Nota: Elaboración propia.

Con la escala de Duraffourd, se realizó un análisis semicuantitativo en función de los halos de inhibición y se corroboró los resultados obtenidos de manera visual en la **Figura 12 y 13.** *Botrytis* spp. mostró más sensibilidad para el extracto concentrado de orujo de uva de 118,45 mgGAE/ml, seguido por la

concentración de 800, 1000 y 1200 mgGAE/ml, mientras que para *Fusarium* spp., el mismo tratamiento fue nulo.

En la **Figura 14,** se muestra el análisis estadístico donde el *p* valor < 0,000, es decir, existe una interacción significativa del tratamiento antifúngico y el hongo. Además, se obtiene un R^2 de 99,99%, por lo que el diseño es altamente confiable.

Figura 14.

Diseño factorial AxB.

Regresión factorial general: Halo de Inhibición (mm) vs. ... Antifúngico

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Hongo	2	Fusarium spp; Botrytis spp
Tratamiento Antifúngico	6	1; 2; 3; 4; 5; 6

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	11	1321,78	120,162	38383,44	0,000
Lineal	6	1001,32	166,886	53308,76	0,000
Hongo	1	608,20	608,198	194277,91	0,000
Tratamiento Antifúngico	5	393,12	78,624	25114,93	0,000
Interacciones de 2 términos	5	320,46	64,092	20473,06	0,000
Hongo*Tratamiento Antifúngico	5	320,46	64,092	20473,06	0,000
Error	24	0,08	0,003		
Total	35	1321,85			

Resumen del modelo

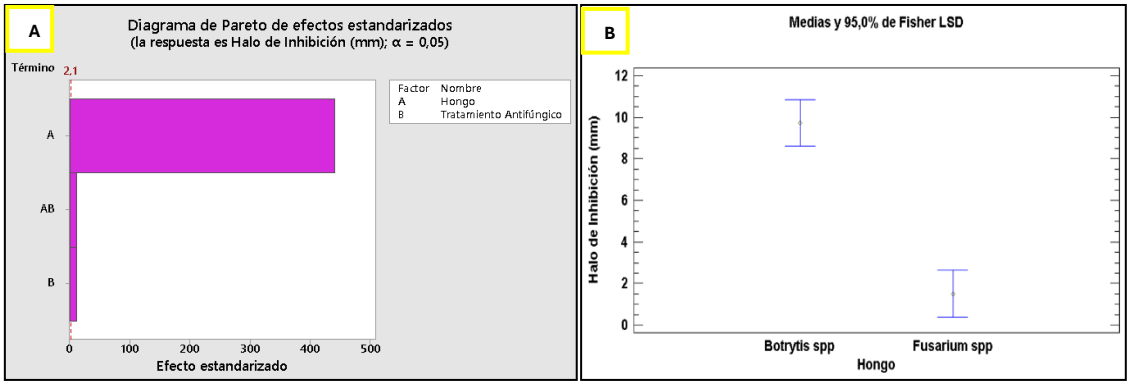
S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0,0559514	99,99%	99,99%	99,99%

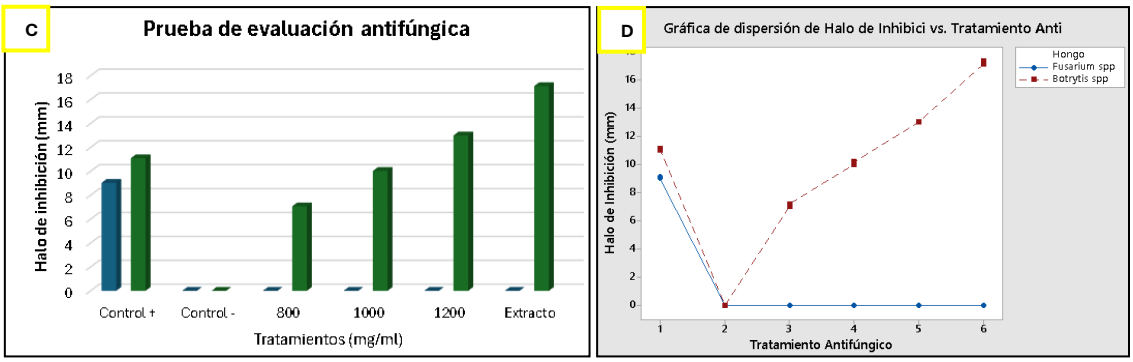
Nota. Elaboración propia. Obtenido de: Software estadístico Minitab.

En la **Figura 15,** se puede observar los diagramas del diseño factorial AxB. En la **Figura A,** se observa el diagrama de Pareto, en la **Figura B,** el diagrama de medias, en la **Figura C,** el diagrama de barras y en **D,** una gráfica de dispersión.

Figura 15.

Diagramas del diseño factorial AxB.





Nota. Elaboración propia. Software estadístico Minitab y Excel.

La **Figura 15 A**, muestra el diagrama de Pareto en función del diseño factorial AxB empleado, en el mismo se evaluó la actividad antifúngica de los polifenoles microencapsulados frente a *Botrytis* spp. y *Fusarium* spp. El factor A, mostró mayor efecto significativo ya que superó la línea de referencia del nivel de significancia del 0,05%. Por lo tanto, se infiere que el tipo de hongo influye significativamente en la evaluación antifúngica de polifenoles de orujo de uva. En la interacción AB y B, también hubo un efecto significativo, aunque con menor impacto que el Fator A. Por lo tanto, la eficacia de los polifenoles de orujo de uva microencapsulados depende del hongo en gran medida y de la concentración de polifenoles, aunque en menor efecto.

La **Figura 15 B**, muestra que *Botrytis* spp. presentó un halo promedio cercano a 10 mm, significativamente superior al observado para *Fusarium* spp., cuya media se ubicó alrededor de 1,5 mm. En base a la escala de Duraffourd, *Botrytis* spp. tiene mayor susceptibilidad frente a los polifenoles evaluados, mientras que *Fusarium* spp. mostró una respuesta nula a los tratamientos aplicados. **(Mendoza et al., 2013),** este comportamiento puede estar relacionado con diferencias estructurales en la pared celular y mecanismos de resistencia específicos de *Fusarium* spp.

La **Figura 15 C,** se presentan los halos de inhibición obtenidos para cada tratamiento frente a ambos hongos. En *Fusarium* spp. el control positivo generó inhibición (9 mm), mientras que las concentraciones de 800, 1000, 1200 mg/mL y el extracto concentrado de 118,45 mgGAE/ml, no produjeron halos detectables. Por el contrario, *Botrytis* spp. mostró una respuesta según la concentración de polifenoles, observándose un incremento continuo del halo desde 7 mm para 800 mg/mL hasta 17 mm para el extracto concentrado sin microencapsular.

La **Figura 15 D**, se visualiza el comportamiento de los dos hongos frente a diferentes tratamientos antifúngicos. La línea correspondiente a *Botrytis* spp. presenta una tendencia empinada conforme aumenta la concentración de polifenoles, por lo que se evidencia una relación positiva entre la dosis aplicada y el halo de inhibición. En contraste, *Fusarium* spp. mantuvo valores cercanos a cero para todos los tratamientos, excepto en el control positivo. La separación progresiva entre ambas curvas

demuestra una interacción significativa entre el tipo de hongo y el tratamiento aplicado, lo cual coincide con los resultados obtenidos en el análisis de varianza.

3.1.3.3 Verificación de hipótesis

Ho: Se rechaza la hipótesis nula.

Ha: Se acepta la hipótesis alternativa, debido a que existe una interacción significativa entre el tipo de hongo y el tratamiento antifúngico sobre la actividad antifúngica.

CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- Los polifenoles microencapsulados obtenidos a partir de orujo de uva evidenciaron una capacidad antifúngica diferente frente a *Botrytis* spp., y *Fusarium* spp. La actividad antifúngica fue significativa frente a *Botrytis* spp., mientras que *Fusarium* spp. mostró sensibilidad nula en las condiciones ensayadas. Por lo tanto, el efecto antifúngico dependió del tipo de hongo y del tratamiento aplicado.
- Se determinó que el orujo de uva es una fuente rica de compuestos fenólicos, siendo el etanol al 96 % el disolvente más eficiente para su extracción mediante el método, Folin–Ciocalteu. El análisis estadístico confirmó que las condiciones de extracción influyeron significativamente en la recuperación de polifenoles. Por lo que, las industriales vitivinícolas pueden aplicar tecnologías biotecnológicas para extraer compuestos bioactivos a partir de la revalorización de residuos orgánicos y generar una economía circular.
- Se desarrolló un microencapsulado de polifenoles mediante secado por aspersión. La maltodextrina presentó mejor desempeño como material de pared, al evidenciar mayor eficiencia y rendimiento de microencapsulación y una adecuada interacción con los compuestos fenólicos según el análisis FTIR.
- La evaluación antifúngica *in vitro* demostró que los tratamientos con polifenoles presentaron inhibición solo frente a *Botrytis* spp., con mayor halo de inhibición sobre todo en las concentraciones más altas. En contraste, *Fusarium* spp. no presentó halos de inhibición frente a los polifenoles evaluados, por ende, se aceptó la hipótesis alternativa ya que la interacción fue significativa entre el tipo de hongo y el tratamiento antifúngico.

4.2 Recomendaciones

- Se recomienda realizar evaluaciones de la capacidad antioxidante, antiinflamatoria, antidiabética y otras pruebas, para aprovechar de manera integral los residuos de las industrias vitivinícolas con la intención de valorizar los desechos agroindustriales y desarrollar alternativas sostenibles con el medio ambiente.

- Se podría realizar estudios de estabilidad durante el almacenamiento, para determinar el tiempo de conservación del producto obtenido, la temperatura idónea y la humedad adecuada de conservación.
- Se recomienda evaluar la actividad antifúngica de polifenoles microencapsulados con la combinación maltodextrina + goma arábiga, para analizar el efecto inhibitorio del crecimiento micelial y contrastarlo con este estudio de análisis antifúngico de polifenoles microencapsulados con maltodextrina.
- Se recomienda realizar pruebas como la concentración mínima inhibitoria (MIC) para corroborar el análisis de las pruebas de Duraffourd.

Referencias Bibliográficas

Ajila, M., Brar, S., Verma, M., Tyagi, R., Godbout, S., & Valéro, R (2011). *Extracción y análisis de polifenoles: tendencias recientes. Critical Reviews in Biotechnology* , 31 (3), 227–249. https://doi.org/10.3109/07388551.2010.513677

Alin, N., Vilcoci, Ș., Cirstea, G., Negrea, D., Sorin, A., Mihaescu, C., & Mitrea, R. (2022*). Characterization of 'Cabernet Sauvignon'pomace extracts and evaluation of antifungal potential of Alternaria sp. and Fusarium sps.* Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 50(3), 12774-12774.

Balan, N., Măntăilă, S., Râpeanu, G., & Stănciuc, N. (2025). *Enhanced Extraction of Bioactive Compounds from Red Grape Pomace: Optimizing Ultrasound-Assisted Extraction with Ethanol and NaDES as Solvents*. *Antioxidants*, 14(5), 526. https://doi.org/10.3390/antiox14050526

Bastola, K., Guragain, Y., Bhadriraju, V., & Vadlani, P. (2017*). Evaluation of Standards and Interfering Compounds in the Determination of Phenolics by Folin-Ciocalteu Assay Method for Effective Bioprocessing of Biomass. American Journal of Analytical Chemistry,* 08, 416-431. https://doi.org/10.4236/ajac.2017.86032.

Belscak, A., Durgo, K., Huđek, A., Bačun, V., & Komes, D. (2018). *Overview of polyphenols and their properties.* En Elsevier eBooks (pp. 3-44). https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813572-3.00001-4

Castilla, L., Martínez., M., Camilo, C., Pedreschi, F., Mariotti., M., & Pérez., J. (2019*). The Impact of Temperature and Ethanol Concentration on the Global Recovery of Specific Polyphenols in an Integrated HPLE/RP Process on Carménère Pomace Extracts.* Molecules, 24(17), 3145. https://doi.org/10.3390/molecules24173145

Cook, R. (2012). *Control biológico y cuidado holístico de la salud vegetal en la agricultura. American Journal of Alternative Agriculture* , *3* (2–3), 51–62. doi:10.1017/S0889189300002186

Davidova, S., Galabov, S., & Satchanska, G. (2024). *Actividad antibacteriana, antifúngica y antiviral, y mecanismos de acción de los polifenoles vegetales*. *Microorganisms* , 12 (12), 2502. https://doi.org/10.3390/microorganisms12122502

Dučkena, L., Bimšteine, G., Bankina, B., Skinderskis, E., Roga, A., & Fridmanis, D. (2024). *Morphological Diversity and Mycelial Compatibility of Botrytis pseudocinerea and Botrytis cinerea Isolated in Latvia. Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural, Exact, and Applied Sciences*., 78, 197 - 205. https://doi.org/10.2478/prolas-2024-0028.

Garg, A., Chhipa, K., & Kumar, L. (2018*). Microencapsulation techniques in pharmaceutical formulation. Eur J Pharm Med Res*, 5(3), 199-206.

Gurgenidze, L., Kanchaveli, T., & Kvartskhava, G. (2022). *Selección de parámetros óptimos para la obtención del extracto de orujo de uva tinta*. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* , 75 (1), 9831-9837. Publicación electrónica del 31 de enero de 2022. https://doi.org/10.15446/rfnam.v75n1.94175

Hassaan, A., & El-Nemr, A. (2021). *Pesticides pollution: Classifications, human health impact, extraction and treatment techniques*. Egyptian Journal of Aquatic Research, 46(3), 207–220. https://doi.org/10.1016/j.ejar.2020.08.007

Huang, K., Yuan, Y., & Baojun, X. (2023). *A critical review on the microencapsulation of bioactive compounds and their application*. *Food reviews international*, 39(5), 2594-2634.

Khan, N., Fahad, S., Naushad, M., & Faisal, S. (2020). *Grape production critical review in the world*. SSRN. https://doi.org/10.2139/ssrn.3595842

Khursheed, A., Rather, A., Jain, V., Wani, R., Rasool, S., Nazir, R., Malik, A., & Majid, A. (2022). *Plant based natural products as potential ecofriendly and safer biopesticides: A comprehensive overview of their advantages over conventional pesticides, limitations and regulatory aspects. Microbial Pathogenesis*, 173(Pt A), 105854. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105854

Lee, M., Taip, S., & Abdullah, Z. (2018*). Effectiveness of additives in spray drying performance: a review. Food Research*, 2(6), 486–499. https://doi.org/10.26656/fr.2017.2(6).134

Lopes, C., Madureira, J., Margaça, A., & Cabo Verde, S. (2025*). Grape Pomace: A Review of Its Bioactive Phenolic Compounds, Health Benefits, and Applications. Molecules*, 30(2), 362. https://doi.org/10.3390/molecules30020362

López, M., Molina, C., Ovando,M., & Leon, M. (2022). *Orujo de uva: Más que un residuo, una fuente de compuestos bioactivos. Epistemus (Sonora)*, 16(33), 115-122. Epub 19 de mayo de 2023.https://doi.org/10.36790/epistemus.v16i33.283

Ma, S., Hu, Y., Liu, S., Sun, J., Irfan, M., Chen, J., & Zhang, L. (2018). *Isolation, identification and the biological characterization of Botrytis cinerea*. *Int. J. Agric. Biol*, 20, 1033-1040.

Machado, R., Voss., B., Machado, M., Paiva, P., Nunes, J., & Pintado, M. (2024*). Chemical characterization of the cultivar 'Vinhão'(Vitis vinifera* L.*) grape pomace towards its circular valorisation and its health benefits. Measurement:Food* , 15 (100175), 100175. https://doi.org/10.1016/j.meafoo.2024.100175

Mendoza, L., Cotoras, M., Vivanco, M., Matsuhiro, B., Torres, S., & Aguirre, M. (2013). *Evaluación de las propiedades antifúngicas contra el hongo fitopatógeno botrytis cinerea de extractos ricos en antocianinas obtenidos de orbos de uva*. *Journal of the Chilean Chemical Society* , 58 (2), 1725-1727. https://dx.doi.org/10.4067/S0717-97072013000200018

Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador. (2023). *Boletín situacional del cultivo de tomate riñón en el Ecuador 2023 [Informe técnico]. Sistema de Información Pública Agropecuaria (SIPA).* Recuperado de https://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/legumbres-hortalizas/tomate-rinon

Moutinho, J., Gouvinhas, I., Domínguez-Perles, R., & Barros, A. (2023). *Optimization of the Extraction Methodology of Grape Pomace Polyphenols for Food Applications. Molecules*, 28(9), 3885. https://doi.org/10.3390/molecules28093885

Mutavski, Z., Vidović, S., Lazarević, Z., Ambrus, R., Motzwickler, A., Aladić, K., & Nastić, N. (2025). *Stabilization and Preservation of Bioactive Compounds in Black Elderberry By-Product Extracts Using Maltodextrin and Gum Arabic via Spray Drying*. *Foods*, *14*(5), 723. https://doi.org/10.3390/foods14050723

Nechifor, M., Buruleanu, L., Dulama, D., Olteanu, L., & Radulescu, C. (2025). *Antifungal activity evaluation of white and red grape pomace extracts against some phytopathogens. Journal of Science and Arts*, 25(1), 175-186.

Nguyen, M., Park, I., Lee, J., Lee, D., & Shin, K. (2024). *Antifungal Activity of Culture Filtrate from Endophytic Fungus Nectria balsamea E282 and Its Fractions against Dryadomyces quercus-mongolicae.* Forests. https://doi.org/10.3390/f15020332.

Nguyen, Q., Mounir, S., & Allaf, K. (2017). *Optimization of the spray drying operating conditions for producing the powder mixture of gum Arabic and maltodextrin. International Journal of Food Engineering*, 13(8), 20160271.

Paixão, N., Pereira, V., Marques, J., & Câmara, J. (2018). *Quantification of polyphenols with potential antioxidant properties in wines using reverse phase HPLC.. Journal of separation science,* 31 12, 2189-98 . https://doi.org/10.1002/jssc.200800021.

Panno, S., Davino, S., Caruso, G, Bertacca, S., Crnogorac, A., Mandić, A., Noris, E. & Matić, S. (2021). *Una revisión de las enfermedades más comunes y económicamente importantes que perjudican el cultivo del tomate en la cuenca mediterránea. Agronomía* , 11 (11), 2188. https://doi.org/10.3390/agronomy11112188

Peanparkdee, M., Iwamoto, S., & Yamauchi, R. (2016). *Microencapsulation: a review of applications in the food and pharmaceutical industries.* Reviews in Agricultural Science, 4, 56-65.

Peanparkdee, M., Iwamoto, S., & Yamauchi, R. (2016). *Microencapsulation: a review of applications in the food and pharmaceutical industries.* Reviews in Agricultural Science, 4, 56-65.

Prabhu, S., Molath, A., Choksi, H., Kumar, S., & Mehra, R. (2021). *Classifications of polyphenols and their potential application in human health and diseases. International Journal of Physiology, Nutrition and Physical Education,* 6(1), 293–301. https://doi.org/10.22271/journalofsport.2021.v6.i1e.2236

Rani, L., Thapa, K., Kanojia, N., Sharma, N., Singh, S., Grewal, A. S., Srivastav, A. L., & Kaushal, J. (2021). *An extensive review on the consequences of chemical pesticides on human health and environment*. *Journal of Cleaner Production*, 283(124657), 124657. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124657

Ríos, S., & Gil, A. (2021*). Spray-drying microencapsulation of bioactive compounds in various matrices: a review. Tecnológicas,* 24(51), e1836. https://doi.org/10.22430/22565337.1836

Sabarwal, A., Kumar, K., & Singh, P. (2022). *Hazardous effects of chemical pesticides on human health – Cancer and other associated disorders*. Environmental Toxicology and Pharmacology, 63, 103–114. https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.08.018

Sánchez, E., Harmanci, M., & Laffleur, F. (2021). *Estrategias actuales para determinar la actividad antifúngica y antimicrobiana de compuestos naturales*. *Microbiological Research* , 252 (126867), 126867. https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126867

Shakya, B., & Aryal, P. (2021). *A study of commonly occurring fungal diseases on stored tomatoes of Kathmandu Valley*. *Studies in Fungi*, 6(1), 159-167.

Silva, E., et al. (2023). *International Journal of Biological Macromolecules, 253*, 126969. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.126969

Silva, I., Stringheta, C., Teófilo, F., & de Oliveira, N. (2013). *Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (Myrciaria jaboticaba) peel extracts using simultaneous analysis of responses. Journal of Food Engineering*, 117(4), 538–544. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.08.039

Sindhura, K., Khatib, P., Nagaraj, M., Kumar, V., Prameela, H., & Bhairappanavar, S. (2024). *Molecular and morphological characterization of Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici causing wilt disease in tomato (Solanum lycopersicum) in Karnataka*. International Journal of Advanced Biochemistry Research. https://doi.org/10.33545/26174693.2024.v8.i3d.738.

Tolun, A., Altintas, Z., & Artik, N. (2016). *Microencapsulation of grape polyphenols using maltodextrin and gum arabic as two alternative coating materials: Development and characterization.* Journal of Biotechnology, 239, 23–33. https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.10.001

Tolun, A., Altintas, Z., & Artik, N. (2016*). Microencapsulation of grape polyphenols using maltodextrin and gum Arabic as two alternative coating materials: Development and characterization*. *Journal of Biotechnology,* 239, 23–33.

Tolun, A., Altintas, Z., & Artik, N. (2016). *Microencapsulation of grape polyphenols using maltodextrin and gum arabic as two alternative coating materials: Development and characterization.* Journal of biotechnology, 239, 23-33.

Wulo, E., Unda, Y., & , S. (2025). *Identification of Phenolic Compounds Content in Tinospora crispa Stem Decoction by FTIR and UV-Visible Spectrophotometry*. Journal Penelitian Pendidikan IPA. https://doi.org/10.29303/jppipa.v11i5.10069.

ANEXOS

Anexo 1.

Clasificación de polifenoles.

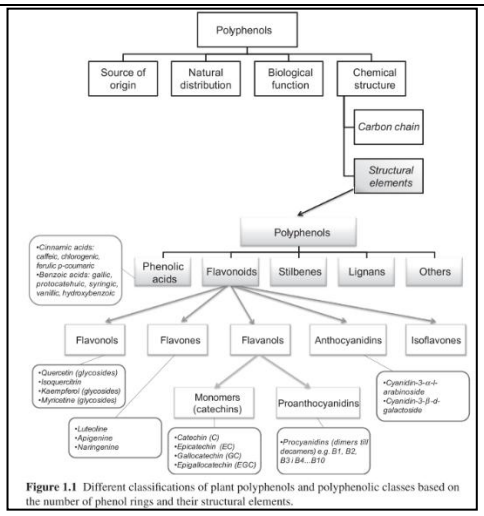
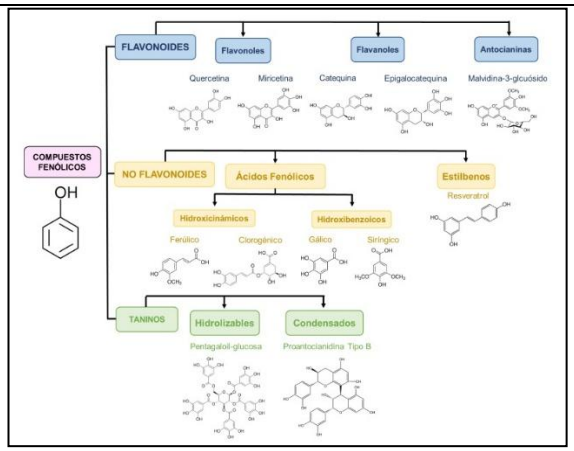


Figure 1.1 Different classifications of plant polyphenols and polyphenolic classes based on the number of phenol rings and their structural elements.

Nota. Elaboración propia. Obtenido de: **(Belscak, et al., 2018).**

Anexo 2.

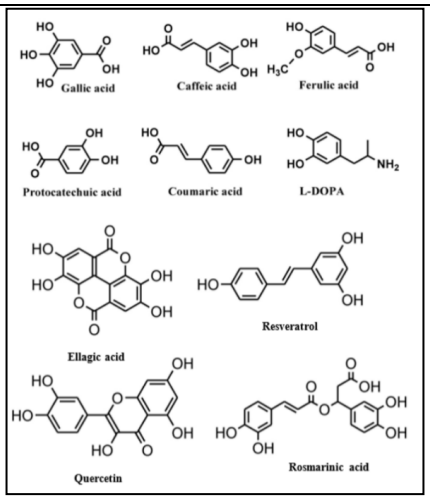
Estructura de polifenoles.



Nota. Elaboración propia.Obtenido de: **(López, et al., 2022).**

Anexo 3.

Estructura química de polifenoles con actividad antifúngica, antibacteriana y antiviral.



Nota. Elaboración propia.Obtenido de: **(Davidova, et al., 2024).**

Anexo 4.

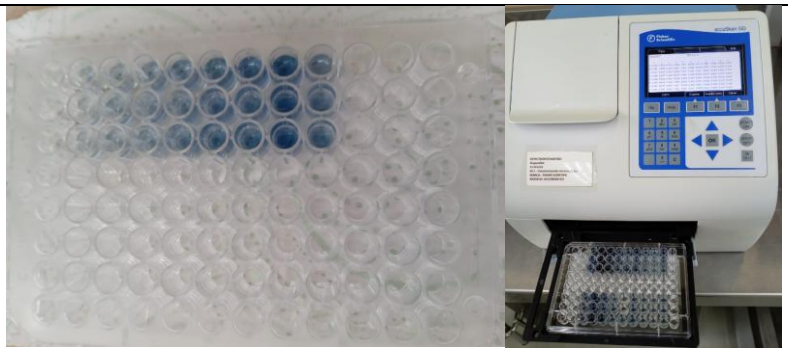
Obtención de la materia prima. Orujo de uva.



Nota. Elaboración propia.

Anexo 5.

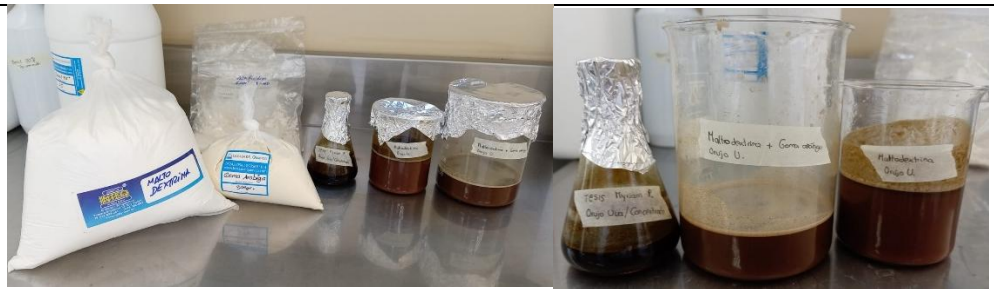
Cuantificación de polifenoles.



Nota. Elaboración propia.

Anexo 6.

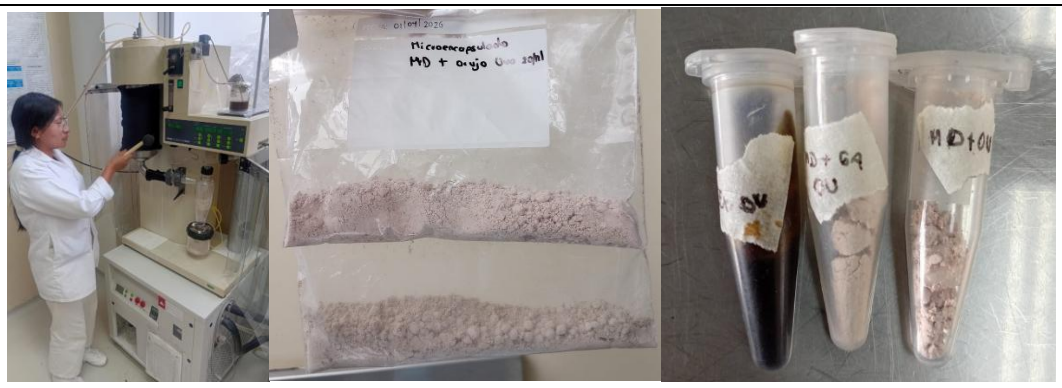
Preparación de emulsiones para la microencapsulación.



Nota. Elaboración propia.

Anexo 7.

Microencapsulación de polifenoles.



Nota. Elaboración propia.

Anexo 8.

Toma de muestras de tejidos infectados con Fusarium spp. y Botrytis spp.



Nota. Elaboración propia.

Anexo 9.

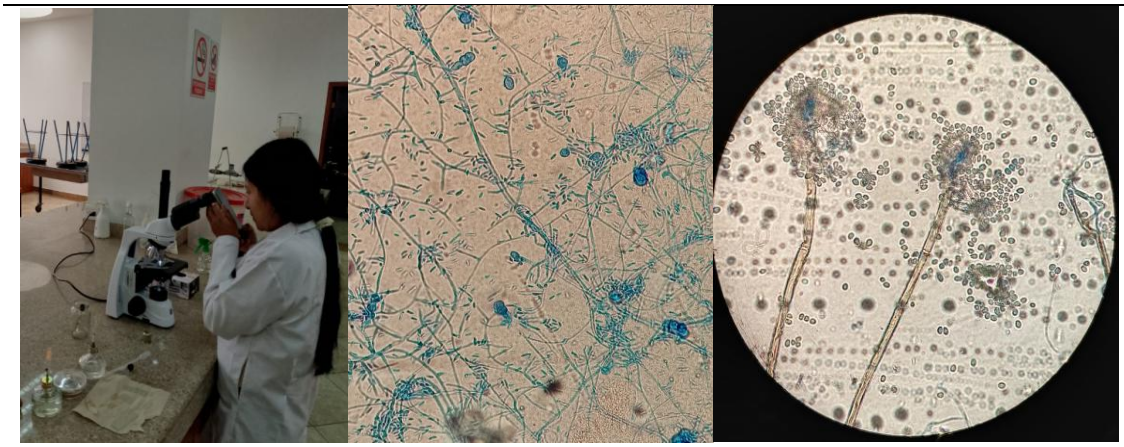
Aislamiento de Fusarium spp. y Botrytis spp.



Nota. Elaboración propia.

Anexo 10.

Identificación microscópica de Fusarium spp. y Botrytis spp.



Nota. Elaboración propia.