

Universidad Católica de Santa María

Escuela de Postgrado

Maestría en Salud Ocupacional y del Medio Ambiente



“EFICACIA DEL EFECTO BACTERICIDA Y CONSERVANTE DEL ALGA (*Ulva spp*) SOBRE CEPAS DE *Escherichia coli* Y *Salmonella spp*. APLICADO EN AGUA UTILIZADA EN FUNDO PRIVADO DE LA PROVINCIA DE CAMANÁ. AREQUIPA, 2020“

Tesis presentada por la licenciada:

Obando Gomez, Sofia del Mar

Para optar el Grado Académico de:

Maestro en Salud Ocupacional y del Medio Ambiente

Asesor:

Dr. Suarez Angles, Otto Oliveros

Arequipa – Perú

2021

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
ESCUELA DE POSTGRADO
DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR DE TESIS

Arequipa, 17 de Febrero del 2021

Dictamen: 001328-C-EPG-2021

Visto el borrador del expediente 001328, presentado por:

2019002692 - OBANDO GOMEZ SOFIA DEL MAR

Titulado:

**EFICACIA DEL EFECTO BACTERICIDA Y CONSERVANTE DEL ALGA (ULVA SPP) SOBRE CEPAS
DE ESCHERICHIA COLI Y SALMONELLA SPP. APLICADO EN AGUA UTILIZADA EN FUNDO
PRIVADO DE LA PROVINCIA DE CAMANÁ. AREQUIPA, 2020**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

1051 - VILLANUEVA SALAS JOSE ANTONIO
DICTAMINADOR



3148 - VERA VALER JUAN JESUS
DICTAMINADOR



6643 - RIVAS CHAVEZ MANUEL ORLANDO
DICTAMINADOR





DEDICATORIA

*Te dedico a ti mi Dios, porque me enseñas con cada detalle y me
haces admirar más ese regalo imperceptible, gracias por devolverme
la vida.*

AGRADECIMIENTO

Agradezco a cada uno de mis docentes de la Maestría “Salud Ocupacional y del Medio Ambiente” de la Universidad Católica de Santa María.

Agradezco a mi asesor el Dr. Otto Suarez Angles por cada palabra que se convirtió en un impulso cada día.

Agradezco a mis padres y grandes maestros, Henry Manuel Obando Sotelo e Yrma Gomez Castro, con ustedes nació mi vocación de enseñar y amar lo que haces, muchas gracias.

Agradezco a mis hermanas Lesly Altayr Obando, Valery Gardenia Obando quienes iluminan la familia con felicidad y ocurrencias, y a mi hermano German Obando quien, a su corta edad, su madurez motiva a creer en todo.

Agradezco a la hermanita Anita, su amor incondicional es digno de imitar, es mi segunda madre.

Agradezco a Juan Carlos Cáceres, por su motivación, su apoyo, sus palabras que alientan a no desvanecer.

A mi abuelito Juan, gracias por ser un ejemplo de superación, a ti en el cielo.

Muchas Gracias.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo principal el determinar la eficacia del efecto bactericida y conservante del alga *Ulva spp.* sobre cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* aplicado en agua utilizada en fundo privado de la provincia de Camaná del departamento de Arequipa en el año 2020, para ello fue necesario de la evaluación exhaustiva de dos experimentos, centrados en la determinación del efecto bactericida del alga *Ulva spp.*, y el efecto conservante del alga *Ulva spp.* aplicado en agua del fundo privado.

La investigación es de campo con intervención de experimentos en laboratorio, cuenta con un nivel experimental y se encamina en la remediación del agua a través de los beneficios que proporciona nuestros recursos naturales hallados en nuestro territorio peruano, las algas marinas, quienes durante miles de años no fueron valoradas, sin sospechar que a partir de su taxonomía compleja y dinámica podemos encontrar grupos funcionales como fuente exitosa de bioactivos en el Perú.

La presente investigación conto con 385 muestras de agua del fundo privado, 5 repeticiones por cada tratamiento experimental y 10 repeticiones por cada tratamiento sensorial. El análisis estadístico estuvo dirigido por análisis de Varianza (ANVA) contando con un valor de significancia $p=0.01$ (Ft) y prueba de comparación de medias (Tuckey) en el caso de diferencias significativas entre tratamientos con un valor de significancia $p=0.01$ (Ft).

La estrategia metodológica tuvo como pilares a la técnica de observación de campo experimental contando con el método de Kirby Bauer y con el análisis de recuento y siembra en superficie en medio sólido.

Dentro de los principales resultados se determinó el efecto bactericida con mayor sensibilidad a una concentración de extracto bioactivo de 1%, 0,5% y 0,25% para cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* contando con tamaños de halo de 16.44mm y 15.32mm, por su parte se determinó el efecto conservante a una concentración de 0,25% de extracto bioactivo, permitiendo conservar óptimamente las características microbiológicas y organolépticas del agua del fundo privado hasta en un tiempo de 10 días. Con ello se confirma la eficacia del efecto bactericida y conservante del Alga *Ulva spp.* sobre cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* aplicado en agua utilizada en fundo privado.

Palabras Clave: Alga, *Ulva spp.*, bactericida, conservante, sensibilidad, tamaño de halo.

ABSTRACT

The main objective of the present research work was to determine the efficacy of the bactericidal and preservative effect of the alga *Ulva spp.* on strains of *Escherichia coli* and *Salmonella spp.* applied to water used in a private farm in the province of Camaná in the department of Arequipa in 2020, for this it was necessary to exhaustively evaluate two experiments, focused on the determination of the bactericidal effect of the alga *Ulva spp.*, and the preservative effect of the alga *Ulva spp.* applied in water from the private estate.

The research is in the field with the intervention of laboratory experiments, has an experimental level and is directed towards the remediation of water through the benefits provided by our natural resources found in our Peruvian territory, seaweed, which for thousands of years they were not valued, without suspecting that from their complex and dynamic taxonomy we can find functional groups as a successful source of bioactives in Peru.

The present investigation had 385 water samples from the private farm, 5 repetitions for each experimental treatment and 10 repetitions for each sensory treatment. The statistical analysis was directed by Analysis of Variance (ANVA) with a significance value $p = 0.01$ (Ft) and a mean comparison test (Tuckey) in the case of significant differences between treatments with a significance value $p = 0.01$ (Ft).

The methodological strategy had as pillars the experimental field observation technique, counting on the Kirby Bauer method and with the analysis of counting and sowing on the surface in solid medium.

Among the main results, the bactericidal effect was determined with greater sensitivity at a concentration of bioactive extract of 1%, 0.5% and 0.25% for strains of *Escherichia coli* and *Salmonella spp.* With halo sizes of 16.44mm and 15.32mm, the preservative effect was determined at a concentration of 0.25% of bioactive extract, allowing to optimally preserve the microbiological and organoleptic characteristics of the private estate water up to a time of 10 days. This confirms the efficacy of the bactericidal and preservative effect of the Alga *Ulva spp.* on strains of *Escherichia coli* and *Salmonella spp.* applied in water used in private property.

Keywords: Alga, *Ulva spp.*, Bactericide, preservative, sensitivity, halo size.

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTO.....	iv
RESUMEN.....	v
ABSTRACT.....	vi
INTRODUCCIÓN.....	1
HIPÓTESIS.....	2
OBJETIVOS.....	3
1. Objetivo general.....	3
2. Objetivos específicos.....	3
CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO.....	4
1. MARCO CONCEPTUAL.....	4
1.1. Calidad de agua.....	4
1.2. Microbiología del agua:.....	9
1.3. Microorganismos patógenos como contaminantes del agua.....	10
1.4. Efecto bactericida.....	13
1.5. Efecto conservante.....	15
1.6. EDA en la provincia de Camaná.....	16
1.7. Alga (<i>Ulva spp.</i>).....	16
2. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	19
2.1. Antecedentes locales.....	19
2.2. Antecedentes nacionales.....	21
2.3. Antecedentes internacionales.....	23
CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA.....	26
1. Tipo de investigación.....	26
2. Nivel de investigación.....	26
3. Técnicas e instrumentos.....	26
3.1. Técnicas.....	26
3.2. Instrumentos.....	26
3.3. Materiales y equipos.....	27
3.4. Análisis u operacionalización de variables e indicadores:.....	30
4. Campo de verificación.....	33
4.1. Ubicación espacial:.....	33

4.2.	Ubicación temporal	34
4.3.	Unidades de estudio	34
4.4.	Muestra.....	34
5.	Estrategia de recolección de datos.....	35
5.1.	Organización	35
5.2.	Validación de los instrumentos	35
5.3.	Criterios para manejo de resultados	35
5.4.	Evaluación de Materia Prima alga (<i>Ulva spp.</i>)	36
5.5.	Evaluación de agua del fundo privado	37
5.6.	Experimento N°1.....	38
5.7.	Experimento N°2.....	40
CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		43
1.	Resultados	43
1.1.	Evaluación de materia prima: Alga (<i>Ulva spp.</i>).....	43
1.2.	Evaluación de agua del fundo privado	44
1.3.	Experimento N°01: Efecto bactericida del alga (<i>Ulva spp.</i>).....	46
1.4.	Experimento N°02: Efecto conservante del alga (<i>Ulva spp.</i>) aplicado en agua	50
2.	Discusión.....	66
CONCLUSIONES.....		69
RECOMENDACIONES		70
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		72

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°01: Clasificación de las aguas para consumo humano.....	5
Tabla N°02: Propiedades y síntomas causados por algunas cepas de <i>Escherichia coli</i> patógenas	12
Tabla N°03: Casos de EDA según el tipo diagnóstico por provincias 2018, Arequipa	16
Tabla N°04: Análisis u operacionalización de variables e indicadores.....	31
Tabla N°05: Resultados del análisis microbiológico del agua utilizada en el fundo privado (Método de recuento y siembra en superficie)	44
Tabla N°06: Análisis de varianza para evaluar el efecto bactericida	48
Tabla N°07: Análisis de factores B x CEB.....	48
Tabla N°08: Tuckey para concentraciones.....	48
Tabla N°09: Resultados del análisis microbiológico del agua utilizada en el fundo privado (Método de recuento y siembra en superficie) – sin extracto bioactivo	50
Tabla N°10: Análisis de varianza para evaluar el efecto conservante - Olor.....	56
Tabla N°11: Análisis de factores CEB x T.....	56
Tabla N°12: Tuckey para concentración	56
Tabla N°13: Tuckey para tiempo.....	56
Tabla N°14: Análisis de varianza para evaluar el efecto conservante - Color	60
Tabla N°15: Tuckey para concentraciones.....	60
Tabla N°16: Análisis de varianza para evaluar el efecto conservante – Viscosidad.....	64
Tabla N°17: Análisis de factores CEB x T.....	64
Tabla N°18: Tuckey para concentración	64
Tabla N°19: Tuckey para tiempos	64

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N°01: Materiales y equipos para la Variable N°1.....	27
Cuadro N°02: Materiales y equipos para la Variable N°2.....	29
Cuadro N°03: Resultados del análisis organoléptico del alga (<i>Ulva spp.</i>).....	43
Cuadro N°04: Resultados del análisis fisicoquímico del alga (<i>Ulva spp.</i>).....	43
Cuadro N°05: Resultados del análisis químico proximal del alga (<i>Ulva spp.</i>)	44
Cuadro N°06: Resultados del análisis organoléptico del agua utilizada en el fondo privado	45
Cuadro N°07: Resultados del efecto bactericida del alga (<i>Ulva spp.</i>) (Método de difusión en discos).....	46
Cuadro N°08: Resultado del recuento de <i>Escherichia coli</i> para el efecto conservante (<i>Ulva spp.</i>) aplicado en agua del fondo privado	51
Cuadro N°09: Resultado del recuento de <i>Salmonella spp.</i> para el efecto conservante (<i>Ulva spp.</i>) aplicado en agua del fondo privado	52
Cuadro N°10: Resultado del efecto conservante aplicado en agua del fondo privado - Olor	53
Cuadro N°11: Resultado del efecto conservante aplicado en agua del fondo privado - Color	58
Cuadro N°12: Resultado del efecto conservante aplicado en agua del fondo privado - Viscosidad	61

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración N°1: Estado de contaminación	6
Ilustración N°2: Agua en utilización de trabajadores del Fundo	7
Ilustración N°3: Estado de deterioro de cosechas por causa microbiológica	7
Ilustración N°4: Estado del agua que se utilizaba para las siembras	8
Ilustración N°5: Fosas subterráneas	9
Ilustración N°6: Mapa de la provincia de Camaná.....	33
Ilustración N°7: Ubicación de puntos de muestreo	33



ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO N°1: ANÁLISIS SENSORIAL
- ANEXO N°2: ANTIBIOGRAMA
- ANEXO N°3: FICHA DE REGISTRO DE DATOS Y FICHA ESCALAR
- ANEXO N°4: FOTOS
- ANEXO N°5: CARTILLAS DE MUESTREO
- ANEXO N°6: VALIDACIÓN DE INSTRUMENTOS
- ANEXO N°7: PARÁMETROS ORGANOLÉPTICOS
- ANEXO N°8: CALIFICACIONES – FICHA ESCALAR



INTRODUCCIÓN

El desequilibrio mundial que en la actualidad se experimenta, así como los cambios climáticos, siguen siendo causa de desorden e inconsciencia en diferentes partes a nivel mundial, la ciencia nos ha demostrado que a través de sus herramientas se puede solucionar de una perspectiva inimaginable problemas, sin embargo, la naturaleza de manera aislada le ha demostrado al hombre poderes que jamás hubiéramos previstos. Somos conscientes que las enfermedades infecciosas representan un gran riesgo ya que son la principal causa de muerte en niños y adultos jóvenes¹. Según información facilitada por la Organización Mundial de la Salud, aproximadamente 2 millones de personas mueren cada año, mayoritariamente niños de menos de 5 años¹, valores alarmantes que motivan a la ejecución de investigaciones con designio a proteger a una población que requiere de estudios y preservar nuestros recursos peruanos. Si analizamos lo dimanado en el departamento de Arequipa encontraremos que se ha convertido en la segunda región por debajo de Lima con mayor tasa de infecciones a causa de bacterias entorepatógenas. Camaná con un total de 59,370 habitantes, se ha convertido en una provincia vital en el sector agropecuario con un aporte cerca al 9% y de 3 mil 500 millones de soles, siendo una provincia con tantas riquezas bordeadas de una costa que la empodera, nos podemos preguntar ¿Por qué presenta cifras elevadas de infecciones tales como EDA (Enfermedades Diarreicas Agudas)? situación que nos orienta rápidamente a estudiar sus aguas y hallar soluciones naturales quienes formando un ciclo podría ser una alternativa mundial de salud ambiental. A través del índice enteropatogénico¹ se puede establecer el principal factor de contaminación que perjudica a mayor escala a una población siendo los patógenos bacterianos más significativos “*Escherichia coli* y *Salmonella spp*” debido a su mecanismo de acción, morfología, movilidad y características nutricionales en ecosistemas acuíferos². La importancia de la presente tesis recae en la vigilancia y control de la calidad de nuestro recurso vital “El agua” a través del aporte de investigaciones que permite la toma oportuna de decisiones de índole ambiental, laboral y el bienestar de la población. Ante lo enunciado, se subraya al alga *Ulva spp*, como una de las clases *Ulvophyceas* del reino *Plantae* con nutridas cifras de bioactivo “Clorofila b”³, este pigmento posee no solo un anillo de porfirina si no una cadena de fitol la cual conecta a las invaginaciones de la membrana celular^{3,4}, es el fitol un punto trascendental para la investigación citada, el enfoque está dado por ser una fuente de generación de apoptosis celular microbiana³ mediante la inducción de la respuesta al estrés oxidativo de la bacteria lo que origina el efecto bactericida y procedente conservación.

HIPÓTESIS

Dado que, el alga *Ulva Spp.* está constituido por clorofila b, la misma que se compone de un anillo de porfirina y una cadena de fitol quien conecta con las invaginaciones de la membrana celular microbiana produciendo apoptosis celular.

Es probable que, tenga un efecto bactericida y conservante sobre cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.*, en el agua del fundo privado de la provincia de Camaná permitiendo proteger la salud de los trabajadores y ser una alternativa viable de innovación ambiental.



OBJETIVOS

1. Objetivo general

El objetivo general de la presente investigación es el determinar la eficacia del efecto bactericida y conservante del alga *Ulva spp.* sobre cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* aplicado en agua utilizada en fundo privado de la provincia de Camaná del departamento de Arequipa.

2. Objetivos específicos

- Determinar el estado microbiológico del agua utilizada en el fundo privado de la provincia de Camaná.
- Determinar el efecto bactericida del Alga *Ulva spp.* sobre cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.*
- Determinar el efecto conservante del Alga *Ulva spp.* aplicado en agua utilizada en el fundo privado de la provincia de Camaná.
- Determinar la mejor concentración de bioactivo del Alga *Ulva spp.* con mayor sensibilidad bactericida y efecto conservante frente a *Escherichia coli* y *Salmonella spp.*

CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO

1. MARCO CONCEPTUAL

1.1. Calidad de agua

1.1.1. Definición

Se define como aquella que asegura al consumidor su protección contra la presencia de agentes patógenos y compuestos físicos y químicos perjudiciales a su salud⁷. Se puede entender la calidad del agua desde una serie de puntos de vista:

- *Funcional*, Como la capacidad intrínseca que tiene el agua para responder a los usos que se podrían obtener de ella⁵.
- *Ambiental*, Como la define La Directiva del Marco de las Aguas⁸, son aquellas condiciones que deben darse en el agua para que esta mantenga el ecosistema equilibrado y para que cumpla una serie de objetivos⁶.

La calidad de las aguas⁵ se considera como una variable descriptora fundamental del medio hídrico, tanto desde una perspectiva de planificación y gestión hidrobiológica ya que delimita la aptitud del agua para mantener los ecosistemas y atender las diferentes demandas de una población⁷.

1.1.2. Calidad de agua para consumo humano

Se entiende al agua apta para los demás usos domésticos, debe ser limpia e inodora y agradable, debe contener algunos gases especialmente aire y sales disueltas en pequeñas cantidades. No debe poseer materias orgánicas, gérmenes patógenos ni sustancias químicas⁵.

1.1.3. Clasificación de la calidad del agua

Existen diversos sistemas que clasifican la calidad de las aguas⁸. La orientaremos según el uso que se le dará ya sea, abastecimiento humano, recreación, u otros campos:

1.1.3.1. Aguas para consumo humano

El agua destinada al consumo humano se caracteriza por valores o parámetros dentro de ellos: DQO (Demanda Química de Oxígeno), DBO₅ (Demanda Biológica de Oxígeno), NH₄⁺(Amonio), NTK (Nitrógeno Total Kjeldahl), conductividad, Cl⁻, CN⁻, recuentos microbiológicos y algunos metales tales como Fe, Cu y Cr ⁹. DIGESA en concordancia al Decreto Supremo N°004-2017 estableció la clasificación de las aguas para consumo humano la misma que podemos precisar en la Tabla N°01.

Tabla N°01: Clasificación de las aguas para consumo humano

Tipo	Clasificación de las aguas para consumo humano
A1	Aguas potabilizables con unos tratamientos físico simple como filtración rápida y desinfección.
A2	Aguas potabilizables con un tratamiento Físico-químico normal, como precloracion, floculación, decantación, filtración y desinfección.
A3	Potabilizable con un tratamiento adicional a la A2, tales como ozonización o carbón activo.
A4	Aguas no utilizables para el suministro de agua potable, salvo casos excepcionales y con un tratamiento intensivo.

Fuente: DIGESA (2018).

1.1.3.2. Aguas para baño y usos deportivos

Se determina la aptitud de las aguas para el baño y uso deportivo tomando muy en cuenta los recuentos microbiológicos, el porcentaje de saturación de oxígeno y en menor medida la presencia de aceites y grasas, así como tomar en consideración las características organolépticas de olor, sabor, color, viscosidad, etc¹⁰.

1.1.3.3. Aguas para procesos agrícolas y piscícolas

Para determinar la aptitud de las aguas que serán empleadas en procesos agrícolas es de suma relevancia determinar la concentración de nitritos y también el amoniaco no ionizado el mismo que es toxico para organismos acuáticos. El recuento de microorganismo permite garantizar la cosecha optimizada y con ello prevenir el tizón como patología en cultivos por la prevalencia de Gram negativos⁸.

1.1.4. Contaminantes del agua

La calidad puede verse modificada por diferentes causas ya sean naturales como por factores externos, es importante reconocer Cuando los factores externos que degradan la calidad natural del agua son ajenos al ciclo hidrológico, se habla de contaminación⁵.

1.1.4.1. Consecuencias del agua contaminada

El reconocimiento del agua como vehículo de dispersión de enfermedades data de hace mucho tiempo. Las enfermedades prevalentes en los países en desarrollo, donde el abastecimiento de agua y el saneamiento son deficientes, son causadas por bacterias, virus, protozoarios y helmintos. Esos organismos causan enfermedades que van desde ligeras gastroenteritis hasta enfermedades graves y fatales de carácter epidémico².

a.1. Al ser humano, según información facilitada por la Organización Mundial de la Salud, las enfermedades infecciosas representan el mayor riesgo de muerte de niños y adultos jóvenes^{11,12}. 2 millones de personas mueren cada año en su mayoría niños menores de 5 años¹² a causa de enfermedades procedentes de agua y alimentos contaminados¹³. Uno de los factores preponderante es el estado del agua de los Anexos, aquellos que se relacionan directamente con la población, a través de la Ilustración N°1 podemos observar el estado de contaminación del agua que se encuentra en uno de los Anexos de la provincia de Camaná.

Ilustración N°1: Estado de contaminación



Fuente: Anexo Uchumayo, Camaná (2020).

b.1. A la comunidad, El mundo ha afrontado diversos brotes infecciosos asociados a contaminación fecal hallados en muestras de agua produciendo casos graves de Hepatitis A como los 300,000 casos en Shanghai en el año 1988 y 25.000 de gastroenteritis virales debido al consumo de moluscos cultivados en un estuario con contaminación fecal. Los datos nos demuestran que hasta la fecha no estamos preparados para prevenir a través de programas o actuar ante problemas ya existentes¹⁴. La exigencia del higienizado de alimentos, así como de diversos recursos del ser humano presiona al acceso directo del agua sin considerar la contaminación de estas, la Ilustración N°2 demuestra como uno de los trabajadores del fundo privado de la provincia de Camaná hace uso directo del agua.

Ilustración N°2: Agua en utilización de trabajadores del Fundo



Fuente: Anexo Uchumayo, Camaná (2020).

c.1. A la agricultura, la incidencia de Gram negativos en su mayoría, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* en las aguas presentan relación directa en las patologías de cultivos, pyricularia, tizón, fracturas celulares quienes intervienen en el menoscabo de la producción y con ello el rendimiento comercial de la provincia de Camaná¹⁵. La Ilustración N°3 revela como la agricultura en la provincia de Camaná se ve mermada por la existencia de tizón y pyricularia, los fitopatógenos se desarrollan en ecosistemas con alta contaminación¹⁶ deteriorando la producción e infectándola argumento que es sustentado por la Ilustración N°4 donde se expone el estado del agua que se utiliza para las siembras de los cultivos en la provincia de Camaná.

Ilustración N°3: Estado de deterioro de cosechas por causa microbiológica



Fuente: Anexo Uchumayo, Camaná (2020).

Ilustración N°4: Estado del agua que se utilizaba para las siembras

Fuente: Anexo Uchumayo, Camaná (2019).

1.1.5. Mecanismos de contaminación

Tal y como lo menciona Paredes¹⁷, cantidades insospechables de sustancias originadas de la actividad humana son vertidas al mar, a los ríos, arroyos y lagos y a las napas subterráneas. Los niveles permisibles de nitratos, células Gram negativas, plaguicidas y metales pesados en numerosos cursos de agua se presentan excedidos holgadamente y todos ellos tienen un grave impacto a la salud. Es importante resaltar que el agua de consumo proviene en muchos casos de cuerpos de agua en los que se vierten las excretas y los residuos industriales que como se expresó con anterioridad son la fuente para epidemias¹⁸.

1.1.5.1. Contaminación del agua superficial

Las aguas superficiales se hallan fácilmente al alcance de la contaminación, el beneficio de las aguas superficiales radica en las condiciones de autodepuración, renovación de oxígeno procedente de la atmósfera y la acción esterilizante del sol⁵.

1.1.5.2. Contaminación de agua profunda

En el Perú la deficiencia de cobertura en materia de infraestructura sanitaria en especial el manejo inadecuado de la provisión de agua y de eliminación de excretas, trae consigo, el daño de las fosas subterráneas y enfermedades de mayor morbilidad infantil¹⁹. Como se puede observar en la Ilustración N°5, el Anexo de Uchumayo en la provincia de Camaná cuenta con una serie de fosas que ponen en riesgo la calidad del agua.

La más prevalente fuente de contaminación de aguas profundas la constituyen las fosas sépticas quienes contaminan con bacterias Gram negativas las napas cercanas, áreas quienes dependen del agua subterránea para sus necesidades diarias. En Camaná el 65% de las viviendas de ciertas áreas urbano-marginales y hasta el 100% no están sujetas a una red de

agua por lo que usan agua de pozo, teniendo como consecuencias valores elevados de riesgo²⁰.

Ilustración N°5: Fosas subterráneas



Fuente: Anexo Uchumayo, Camaná (2019).

1.2. Microbiología del agua:

La versatilidad microbiológica de las aguas naturales aglomera numerosos organismos e incluye células procariotas como microorganismos con capacidad de síntesis nula los microorganismos más reconocidos en el agua son las bacterias y los virus²¹.

Las Bacterias: Se derivan bacterias Gram negativas tales como *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Gallionella*, *Enterobacteriaceae*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Alcaligenes*, *Bordetella*, *Neisseria*, *Moraxella* y *Acinetobacter*⁶.

Las *Pseudomonas* son las más comunes en fuentes de carbono elevados y por sus bajos requerimientos nutricionales. Ellas son bacilos psicrófilos, están compuestas por flagelos periticos, producen pigmentos (verde, azul verdoso, rojo y marrón) y no forman esporas, no fermentan azúcar su agente etiológico principal de infección son las vías urinarias. Su presencia se ve direccionada en tanques, cisternas, y sistemas de almacenamiento^{6,19}.

Las *Flavobacterium* es un género ampliamente distribuido en suelos y agua, no ha sido encontrado en acuíferos profundos, por lo que se estima su colonización en pozos de perforación, se caracterizan por falta de movilidad y producción de pigmentos de color amarillo^{22,23}.

Las cepas del género *Gallionella* se caracterizan por ser quimiolitotrofas, obtienen energía por oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+} y la precipitación de hidróxidos, se desarrollan en medios donde existe aguas aerobias y anaerobias y alto contenido de hierro (III)⁶.

Las *Enterobacterias* o *Enterobacteriaceae* son las más importantes dentro de los anaeróbicos facultativos y su presencia en agua está asociada a la contaminación fecal. Este grupo de bacterias habita naturalmente en el intestino de animales y llegan al ecosistema acuífero naturalmente por población animal colindante. Generalmente se caracterizan por su capacidad para fermentar glucosa por vía glucolítica dando ácidos como producto final, la *Escherichia coli* es utilizada como indicador de contaminación fecal en aguas por excelencia, las cepas de *Escherichia coli* causan infecciones del tracto intestinal agudas. Otro de los patógenos reconocidos es la *Salmonella spp.* Por su origen fecal de rápida dispersión quienes producen gastroenteritis y fiebre tifoidea respectivamente, aumentando las enfermedades diarreicas agudas^{22,23}.

El grupo *Vibrio* está integrado por bacilos curvado, anaerobios facultativos poseen flagelos polares, su diferencia con las pseudomonas reside en el metabolismo no fermentativo, están presentes en aguas marinas en mayor escala, el *Vibrio Cholerae* es la especie más representativa⁶.

Las bacterias Gram positivas son un grupo no muy difundido en el agua, los cocos más comunes son *Staphylococcus* y *Streptococcus*. Aerobios tolerantes a altas concentraciones salinas²³.

Los Virus: Los *Adenovirus* y el *Rotavirus* son las más representativas quienes causan el 87% de las enfermedades virales, su unión a la célula es lento y toma varias horas, implica la interacción de la glicoproteína denominada fibra con receptores⁶.

1.3. Microorganismos patógenos como contaminantes del agua

Paredes¹⁷ menciona, a través de su investigación que un gran número de enfermedades son transmitidas por vía fecal-oral utilizando como medio el agua y los alimentos ante el presente panorama existen microorganismos que actúan como indicadores de contaminación fecal, se caracterizan porque deben ser constantes, abundantes y exclusivos de la materia fecal, deben tener una sobrevivencia similar a la de los patógenos intestinales y deben ser capaces de desarrollarse extraintestinalmente²⁴.

Larrea J.²⁵, argumenta, que el grupo coliforme es enteramente exclusivo de la materia fecal, sin embargo las características de sobrevivencia y la capacidad para multiplicarse fuera del

intestino también se observa en aguas potables por lo que el presente grupo se emplea como indicador de contaminante fecal en agua, y su relación va de la siguiente manera: A mayor número de coliforme en agua, mayor será la probabilidad de estar frente a una contaminación reciente².

1.3.1. Clasificación de *Escherichia coli*

Es una bacteria habitual en el intestino del ser humano y de otros animales de sangre caliente. Aunque la mayoría de las cepas son inofensivas, algunas pueden causar una grave enfermedad de transmisión alimentaria, su presencia es un índice de malas prácticas de manufactura¹⁴.

▪ *Características Morfológicas:*

Es un Bacilo Gram negativo, no forma esporas y sus cepas son móviles, con flagelos peritricos cuyo tamaño es 0.5μ de ancho por 3μ de largo, siendo catalasa positiva y oxidasa negativo, reduce de nitrato a nitrito y produce vitamina B y K²⁶.

▪ *Características Nutricionales:*

Fermenta la glucosa y lactosa con producción de gas, es anaerobio facultativo¹⁹.

▪ *Características Coloniales:*

Las colonias de *Escherichia coli* en un medio EMB (Eosina y Azul de Metileno) tienen 2 a 4 mm de diámetro, con un centro grande de color oscuro e incluso negro y tienen verde metálico cuando se observan con luz refleja²⁶.

La demostración y el recuento de organismos coliformes, puede realizarse mediante el empleo de medios selectivos líquidos y sólidos, la clasificación de *Escherichia coli* se distribuye en:

- ***Escherichia Coli Enterotoxigénica (ETC)***, Reconocida como el agente causal de la diarrea del viajero, se caracteriza por ser una diarrea acuosa y sin fiebre. El microorganismo es capaz de producir dos tipos de toxinas. Una toxina termolábil de aproximadamente 89 kDa, la siguiente toxina es termoestable y es de 4 kDa de peso molecular capaz de resistir temperaturas de ebullición hasta por 30 minutos².

- ***Escherichia Coli Enteropatógena (ECEP)***, provoca diarrea en los lactantes, se adhiere a las células de la mucosa del intestino delgado. El microorganismo produce dos proteínas: La intimina que es codificada por el gen *eae* y un factor de adherencia que es codificado por un plásmido, ambas proteínas permite su unión a los enterocitos y la posterior destrucción de las microvellosidades intestinales².

- ***Escherichia Coli Enteroinvasiva (EIEC)***, Presenta una relación con el género *Shiguella*, y a su vez produce una enfermedad similar a la shigelosis quien se presenta generalmente en niños de países subdesarrollados. La dosis infectiva para *Shiguella* es de 10 a 100 microorganismos en el caso de EIEC la dosis infectiva 10^6 bacterias. Se diferencia de las demás clasificaciones de *Escherichia coli* debido a que no utiliza la lactosa como fuente de carbono, no descarboxilan la lisina, es inmóvil y anaerogenicos¹⁹.
- ***Escherichia Coli Enterohemorrágica (EHEC)***, Produce verotoxina, denominada así por su efecto citotóxico sobre las células vero, una línea de células renales de monoverde africano. La EHEC se ha asociado con colitis hemorrágica, una variedad grave de diarrea, enfermedad capaz de producir insuficiencia renal aguda, anemia hemolítica y trombocitopenia².

La Tabla N°02 precisa a continuación cada una de las propiedades como las toxinas y síntomas causados por las cepas de *Escherichia coli*.

Tabla N°02: Propiedades y síntomas causados por algunas cepas de *Escherichia coli* patógenas

Descripción	EPEC	ECEP	EHEC	EIEC
Toxina	Lábil/estable	-	Shiga o vero	-
Invasiva		-	-	+
Intiminas		+	+	-
Enterohemolisina		-	+	-
Aspecto de las heces	Aguadas	Aguadas sanguinolentas	Aguadas muy sanguinolentas	Mucoides y Sanguinolentas
Presencia de leucocitos en heces	-	-	-	+
Fiebre	Baja	+	-	+
Intestino involucrado	Delgado	Delgado	Colon	Colon y parte baja del delgado
Dosis infectiva	Alta	Alta	Baja	Alta
serotipos	Varios	O26, O111 y otro	O157:H7, O26, O111 y otros	Varios

Fuente: Resumen, Laboratorio de Bacteriología Molecular, departamento de Biología Molecular, Martha Rodríguez, México (2002).

1.3.2. Clasificación de *Salmonella spp.*

El género *Salmonella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Son bacterias Gram negativas no esporuladas, anaerobias facultativas, mesófilas con una temperatura óptima de crecimiento de 35 – 37 °C y un rango de 5 - 46 °C. Desde el punto de vista epidemiológico *Salmonella spp.* Se puede clasificar en tres grupos²²:

- a. Las que no tienen preferencia por algún huésped en especial, por lo que infectan tanto al hombre como a los animales. En este grupo se encuentran la mayoría de las serovariedades responsables de las salmonelosis²².
- b. Las que infectan sólo al hombre: *Salmonella Typhi*, *Salmonella Paratyphi A* y *Salmonella Paratyphi C*. y que se transmiten en forma directa o indirecta de una persona a otra²².
- c. Las que están adaptadas a un huésped en especies animales: *S. Abortusovis*, a los ovinos; *S. Abortusequi*, a los equinos y *S. Gallinarum*, a las aves²⁷.

▪ *Características Morfológicas:*

Es un género de la familia *Enterobacteriaceae* que agrupan bacilos Gram negativos, móviles con pocas excepciones²⁷.

▪ *Características Nutricionales:*

Es catalasa positivo y oxidasa negativo (*Salmonella tiphy* es una excepción importante que no produce gas y es citrato de Simmons negativo)²².

▪ *Características Coloniales:*

Las colonias de *Salmonella spp.* en un medio *Salmonella* y *Shiguella* (S.S) presentan coloraciones rosadas a fucsia con el reflejo de la luz²².

1.4. Efecto bactericida

1.4.1. Definición

Sustancia que causa la muerte a las bacterias., los organismos tienen la capacidad de secretar sustancias bactericidas como medios defensivos contra las bacterias²⁸.

Tal y como lo menciona Troncoso¹ en su investigación, se identificaron compuestos antibacterianos en macroalgas, dando como conclusión la actividad en todos los complejos de *Ulva spp.*, respuesta hallada a partir del fitol 3, 7, 11, 15–tetrametil-2-hexadeceno-1-ol, atribuyéndole actividades antibacterianas y antimicóticas así como antivirales, en el complejo de *Ulva spp.* extraído en extracto crudo de acetato se observó la presencia de metil-2-fenilquinolina descrita como molécula antimicrobiana, en los extractos de acetato de etilo y diclorometano se detectó la molécula de neofitadieno, compuesto identificado como antimicrobiano y antiviral¹, así mismo Simopoulos, identificó cadenas alifáticas insaturadas

de 16 y 43 carbonos (C); hexadecano, heptadecano, octadecano, nonadecano, eicosano, ácido palmítico y ácido α -linoleico metil ester²⁹.

1.4.2. Métodos para determinar el efecto bactericida

1.4.2.1. Método de prueba convencional: Difusión con discos

Guiado por Clinical and Laboratory Standards Institute en Estados Unidos, el estudio de la sensibilidad antimicrobiana de las diferentes bacterias aisladas en muestras biológicas tiene 2 objetivos fundamentales: guiar al clínico en la elección del mejor tratamiento individual, y monitorizar la evolución de la resistencia bacteriana con objeto de revisar el espectro del antimicrobiano y poder actualizar los tratamientos empíricos. Este estudio se realiza mediante el antibiograma, que mide la sensibilidad de una bacteria frente a diferentes antimicrobianos *in vitro* y a partir de estos resultados predice la eficacia *in vivo*. Con un antibiograma se pueden obtener resultados cualitativos que indican si la bacteria es sensible o resistente a un antibiótico, o cuantitativos que determinan la concentración mínima (CMI) de antimicrobiano que inhibe el crecimiento bacteriano (en $\mu\text{g/mL}$ o en mg/L). La interpretación de los resultados del antibiograma (sensible, intermedio o resistente) se realiza en función de los valores establecidos por diferentes comités, como el Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión en Perú¹⁸.

Las técnicas de difusión emplean discos de papel impregnados con una solución estandarizada de antibiótico que se disponen sobre la superficie de un medio sólido previamente inoculado en su superficie con una suspensión bacteriana. Tras un período de incubación de 18 h, el diámetro del halo formado está en relación con el grado de sensibilidad del microorganismo²³. La carga del disco está ajustada para que los halos de inhibición permitan diferenciar los microorganismos sensibles de los resistentes y pueda establecerse una correlación con los valores de CMI: halos pequeños se relacionan con valores altos de CMI (resistentes) y halos grandes con CMI bajas (sensibles). Otra técnica de difusión es el E-test, que además permite la determinación directa del valor de la CMI. Utiliza tiras de plástico impregnadas con un antibiótico en concentraciones decrecientes. Al contacto de la tira con el agar, el antibiótico difunde e impide el crecimiento del microorganismo. Después de la incubación se observa una zona de inhibición en forma de elipse: el valor de la CMI es el punto de intersección de la elipse con la tira y está indicado en la escala impresa sobre la superficie de la tira. Esta técnica puede utilizarse directamente sobre muestras clínicas para

obtener resultados preliminares en menos de 24 h, que siempre deben confirmarse mediante pruebas de sensibilidad estandarizadas con bacterias en cultivo puro³⁰.

1.4.2.2. Método Kirby-Bauer

El método Kirby-Bauer es sustentado por diversas investigaciones^{31,32}, se fundamenta de la siguiente manera, sobre la superficie de una placa de agar Müller-Hinton (Medio de cultivo rico, diseñado especialmente para hacer ensayos de sensibilidad) se inocula una cantidad estandarizada de bacterias, bacterias que deben de ser analizadas por una escala de Mc Farland quien nos indica que nos encontramos con una dilución de 10^8 ufc o en la fase logarítmica de la cepa bacteriana, sembrándolas de forma uniforme para obtener después de la inoculación un "Césped" bacteriano. A continuación, se colocan discos de papel de filtro impregnados con concentraciones conocidas de los diferentes antibióticos. La elección de los antibióticos a probar depende del germen y del foco de infección³³.

El antibiótico difundirá desde el papel filtro al agar de forma radial. Se incuba la placa durante 18 horas a 35 °C (respetar este parámetro, porque temperaturas menores pueden disminuir la velocidad del crecimiento del germen y la difusión del antibiótico, dando halos irregulares difíciles de medir), y luego se miden los halos de inhibición de desarrollo, interpretándose de acuerdo con tablas confeccionadas previamente²⁰.

Los resultados se expresan como: Sensible (S), Intermedio o Moderadamente sensible (I) y Resistente (R)³².

1.5. Efecto conservante

1.5.1. Definición

Son consideradas como sustancias quienes al ser incorporadas en un sistema complejo³⁴ apoyan a mantener durante un mayor tiempo las características físico-químicas, organolépticas y microbiológicas. A su vez son definidos por Madrid como sustancias que se añaden a productos de naturaleza alimenticia para preservarlos de alteraciones biológicas como fermentaciones, enmohecimiento y putrefacción^{35,36}.

1.5.2. Tipos de conservación

1.5.2.1. Conservación física

La conservación Física se describe como aquella derivada de una metodología natural, si bien es el más común método de conservación y dentro de ellas encontramos la refrigeración y esterilización son un claro ejemplo de ello, su mayor debilidad termina siendo el costo para una industria³⁴.

1.5.2.2. Conservación Química

La conservación Química se define como la adición de ingredientes a un producto con el fin de prevenir daños o cambios indeseados, a ellos se les consideran como aditivos de conservación en la industria Alimentaria^{34,35}.

1.6. EDA en la provincia de Camaná

Según la Gerencia Regional de Salud de Arequipa, existe 33 distritos con tasas superiores al promedio regional y Camaná se ubica dentro de las cinco provincias con mayor índice de EDAS, siendo los niños menores a 5 años quienes presentan la mayor incidencia. Cifras sostenidas en la Tabla N°03 a partir de la Gerencia Regional de Salud en el 2018 donde se encontró 98 casos de EDA en niños menores de 5 años a diferencia de la provincia de la Unión con 31 casos³⁷.

Tabla N°03: Casos de EDA según el tipo diagnóstico por provincias 2018, Arequipa

PROVINCIA	CASOS DE LA S.E. 4				ACUMULADO A LA S.E. 4				TOTAL EDAS ACUMULADAS			
	EDA Acuosa		EDA Disenterica		EDA Acuosa		EDA Disenterica		Menores 5 Años		Mayores 5 Años	
	-5	+5	-5	+5	-5	+5	-5	+5	N °	TASA*	N °	TASA**
REGION	759	1010	18	23	2694	3941	79	68	2773	26,76	4009	330,80233
Arequipa	605	771	16	22	2073	2797	73	64	2146	28,88	2861	312,23
Camana	18	38	2	1	94	159	4	3	98	18,85	162	294,29
Caraveli	33	30	0	0	83	122	0	0	83	22,51	122	320,07
Islay	22	66	0	0	138	345	0	0	138	35,71	345	691,08
Caylloma	58	58	0	0	196	247	2	1	198	20,43	248	286,37
Condesuyos	4	8	0	0	31	57	0	0	31	19,24	57	340,79
Castilla	9	26	0	0	48	145	0	0	48	13,17	145	404,15
La Union	10	13	0	0	31	69	0	0	31	19,10	69	518,76

Fuente: EPID - V.S.P.
*Tasa X 1000 **Tasa X 100000

Fuente: Gerencia Regional de Salud Arequipa.

1.7. Alga (*Ulva spp.*)

1.7.1. Definición

Es un alga azul verdosa que pertenece a las clorofíceas, es conocida como “Lechuga de mar” en diferentes partes del mundo por sus largas hojas verdes. Identificada por primera vez por Linneo en 1753¹ desde entonces muchos taxónomos han sido involucrados en la identificación de especies de *Ulva spp.* las mismas que son complejas de clasificar por la plasticidad morfológica, taxones y talos³⁸.

1.7.1.1. Taxonomía

Pertencen al Reino Plantae, la Clase Ulvophyceae, su orden es “Ulvales” y de género “*Ulva spp.*”³⁸, el nombre *Ulva* fue mantenido para algas verdes con talos que presentan dos capas de células y talos tubulares, a nivel mundial se registran cerca de 313 especies³⁹.

1.7.2. Morfología

Las especies de *Ulva spp.* son morfológicamente perceptibles, sus talos pueden ser laminares o tubulares de formas diversas, irregulares, alineados, lanceolados, cuneados, se identifican fácilmente ya que poseen texturas finas con bordes rizados, sus delicadas láminas son usualmente de 40 micrones de grosor⁴⁰.

El color de la *Ulva spp.* deriva de la cantidad de pigmentos verdes⁴¹ (clorofila a y b), adicional a la clorofila contienen carotenoides (β carotenos, de color amarillo), luteína, sinfonoxantina y una xantófila especial característica de las algas verdes cenocíticas (que poseen múltiples núcleos). El género *Ulva spp.* se fija por un disco basal a diferentes tipos de sustratos lo que permite su supervivencia, dentro de los sustratos se encuentran rocas, objetos solidos en fondos arenosos, y su desarrollo depende directamente del hábitat y sus factores como el oleaje, en lugares apacibles sus talos logran medir hasta 1 metro de altura⁴².

1.7.3. Hábitat

La mayoría de las especies del género *Ulva spp.* son cosmopolitas, desarrollándose según las diferencias de salinidad, temperatura, turbidez y composición química, a lo largo del mundo podemos hallarlas en costas de Australia, Nueva Zelanda, islas del pacífico y Sudamérica^{43,44}. Usualmente las observamos en zonas intermareales de la mayoría de océanos, áreas donde el sustrato tiene mayor disponibilidad de nutrientes, donde hay condiciones adecuadas de luz y temperatura³⁸. Es relevante reconocer que menos concentraciones de nitrógeno favorecen la formación de gametos (célula que tiene función reproductora)⁴⁵.

1.7.3.1. Salinidad

La fotosíntesis en las algas logran su máxima eficiencia a un determinado nivel de salinidad⁴⁶ (aproximadamente 3,39%), variaciones extremas en el presente indicador pueden causar pérdidas importantes en el desarrollo vital de estos vegetales y en algunos casos provocan su muerte⁴³.

1.7.3.2. Temperatura

El género *Ulva spp.* es eurihalinas y euritermas⁴⁰ y soportan grandes variaciones de salinidad en flancos supralitorales, mesolitoral y las estenotérmicas en las zonas sumergidas. En latitudes medias o altas el rango de temperatura aceptable para algunas especies de *Ulva spp.* se encuentra entre 6°C y 8°C, a partir de ese valor el alga se convierte en fértil y después se

desintegra. Por su parte el hielo afecta a las macroalgas ya que blanquea toda la lámina impidiendo su reproducción por la baja frecuencia de luz⁴⁷.

1.7.3.3. Intensidad luminosa

La luz desempeña un rol vital en la reproducción del alga *Ulva spp.* su intensidad depende de la época del año así como la orientación y la situación de la localidad⁴⁷. La luz tiene un efecto directamente proporcional sobre la fotosíntesis por lo que repercute directamente en su crecimiento. Un aumento de la intensidad luminosa provoca una mayor actividad fotosintética y por ende tanto un aumento en el pH del medio acuoso como de su contenido de oxígeno. Algunas especies muestran una saturación fotosintética a niveles de intensidad luminosa mayores a $456 \mu\text{M s}^{-1} \text{m}^{-2}$ ⁴⁸.

1.7.3.4. Sustrato

Su relevancia se fundamenta en la fijación de las mismas, las algas se alimentan a través de su disco basal quienes se fijan al sustrato⁴⁹ compuestos por calizas parcialmente disueltas o fragmentadas, son los sustratos irregulares los que permiten la supervivencia de las algas mientras que en pavimentos rocosos con superficie lisa las posibilidades de vivir son nulas⁵⁰.

1.7.3.5. Movimiento del agua

Las mareas y el oleaje actúan sobre la vegetación marina, ejerciendo una mezcla de acciones físicas, químicas y biológicas, la distribución de las algas depende del movimiento del agua, su mayor reproducción se alcanza durante periodos de calma y en periodos de tormentas pueden quedar destruidas. Los morfotipos también se ven directamente influenciadas por la intensidad de la marea⁵⁰.

1.7.3.6. Producción de compuestos bioactivos

Nicolas Troncoso en el 2015 identificó compuestos antibacterianos en macroalgas, sustentando la hipótesis que la actividad del 3, 7, 11, 15-tetrametil-2-hexadeceno-1-ol es directamente sobre bacterias y hongos, el efecto se produjo a través de extractos a partir de acetato de etilo y diclorometano²⁹. Por otro lado Da Silva en el 2010 evaluó la actividad antiviral de la *Ulva spp.*, logrando identificar que los extractos pueden producir compuestos bioactivos potentes⁴².

a. Clorofila

El género *Ulva spp.* reconocida como laminilla³ debe su color al pigmento “Clorofila”, biomolécula extremadamente relevante en la fotosíntesis del alga, su estructura está compuesta por dos partes, un anillo de porfirina que contiene magnesio y cuya función es

absorber la luz y una cadena de fitol cuya función es mantener la clorofila integrada a la membrana fotosintética del tilacoide quien se encuentra en el estoma del cloroplasto⁴.

b. Fitol

El fitol es un alcohol diterpenico acíclico, se desempeña en la membrana fotosintética del tilacoide del cloroplasto aumentando la fijación de proteínas incluyendo las bacterianas, de esta manera genera la aglutinación y la posterior apoptosis celular²⁸. La inactivación de proteínas y de enzimas es uno de los principales mecanismos de inactivación de los microbios⁵¹. La actividad antibacteriana del fitol y su mecanismo induce la muerte celular oxidativa, investigaciones^{1,29,42} argumentan que en las células bacterianas tratadas con fitol se observaron niveles altos de especies de oxígeno reactivo intracelular (ROS) y agotamiento del NADH⁵² transitorio (Antioxidante) lo que demuestra que el fitol induce a la acumulación del ROS en la bacteria donde la cadena de transporte de electrones está involucrada, al elevar el ROS⁵³ intracelular el Glutatión reducido disminuye teniendo como resultado daños en el ADN de las células, provocado por un estrés oxidativo⁵⁴.

2. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

2.1. Antecedentes locales

a) **Autor:** MALAGA CARPIO, MILAGROS LINDA

Título: “COLIFORMES FECALES EN FUENTES DE AGUA DE CONSUMO HUMANO DEL DISTRITO DE LA JOYA. AREQUIPA, 2018”

Resumen: La investigación sustentada por Malaga, tiene como *Objetivo* principal corroborar la existencia de Coliformes totales y fecales del agua potable de Chuquibamba en la región de Arequipa, también cuantificar y comparar los resultados obtenidos para Coliformes totales y fecales con los límites máximos permisibles de la normativa vigente e identificar a las Coliformes fecales resultantes. La investigación aplica una *Metodología* utilizando tubos de fermentación múltiple del Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (SMEWW). Para la identificación bacteriana se utilizó Agar EMB, y pruebas bioquímicas como TSI, LIA, Citrato según Simmons e Indol, para ello fue necesario aplicar 54 muestras de nueve puntos de muestreo. Los *Resultados* mostraron la existencia de Coliformes totales en los reservorios y domicilios, teniendo como valor máximo 2.7 NMP (Numero Más Probable) /100 mL y mínimo de 2.4 NMP/100 mL, y para las Coliformes fecales que también se encontraron en reservorios y domicilios el valor

máximo fue de 2.5 NMP/100 mL y el mínimo de 1.1 NMP/100 mL. La investigación presenta como conclusión que en el agua potable analizada sobreviven bacterias Coliformes totales y fecales, residentes básicamente en los reservorios, con valores superiores a los establecidos por la norma (DS 031-2010 SA), por otro lado las bacterias termotolerantes sobrevivientes en el agua domiciliaria poseen valores disminuidos y permanecen el margen de lo aceptable, la cual establece un límite máximo permisible de $<1.8\text{NMP}/100\text{ mL}$, para ambos grupos, también se logró identificar dos bacterias de origen fecal, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. Todos los resultados obtenidos en cada punto de muestreo (promedios) excluyendo a las bacterias termotolerantes de los domicilios poseen valores superiores a los límites máximos permisibles. La investigación argumenta la importancia del análisis de las aguas en una localidad donde sus índices de enfermedades diarreicas son elevados, teniendo en consideración el método de APHA⁵⁵.

b) Autor: HIDALGO VALDIVIA, ALEJANDRO

Título: “CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DEL AGUA PARA ABASTECIMIENTO DEL DISTRITO DE LA JOYA. AREQUIPA 2013”

Resumen: En la investigación se argumenta la necesidad de establecer características tales como la fisicoquímica, así como microbiológica del agua, presenta como *Objetivo Principal*, el caracterizar microbiológica y fisicoquímicamente el agua, basándose en la *Metodología* APHA y en el “Reglamento de la Calidad del Agua para consumo humano” correspondiente al Decreto Supremo D.S N 031-2010-SA a partir del análisis e interpretación de resultados se plantea una propuesta de planta de tratamiento de agua potable con el objeto de mejorar la calidad de agua distribuida a los pobladores de este distrito, es importante considerar que para la sistematización de los datos obtenidos el autor empleo como procedimientos la codificación y tabulación para el ordenamiento de los resultados de los parámetros físicos, químicos y microbiológicos, los mismos que se trabajaron mediante el Software SPSS y el Excel, donde finalmente se plasmaron en tablas y gráficas. Los *Resultados* obtenidos arrojaron que los Sulfatos, Sólidos Disueltos Totales (SDT), DBO5, Coliformes totales y Termotolerantes excedieron los LMP; no cumpliendo con el valor mínimo para una desinfección eficaz por lo tanto La investigación concluye en el requerimiento de una planta de tratamiento de agua potable con el objeto de mejorar la calidad de agua distribuida en los pobladores del distrito de la Joya⁵⁶.

c) **Autor:** AMADO CAMARGO, MARJORIE FRANCESCA

Título: “DETERMINACIÓN BACTERIOLÓGICA DE LA CALIDAD DEL AGUA DE CONSUMO HUMANO, REGADÍO Y BEBIDA DE ANIMALES DEL DISTRITO DE MAJES, PROVINCIA DE CAYLLOMA, DEPARTAMENTO DE AREQUIPA, ABRIL - MAYO 2017”

Resumen: La presente investigación tiene como *Objetivo* primordial determinar la calidad bacteriológica del agua de consumo humano, regadío y bebida de animales por medio de la presencia de microorganismos indicadores; coliformes totales, coliformes termotolerantes o fecales y bacterias heterótrofas en agua potable y agua cruda del Distrito de Majes. Para la *Metodología* aplicada (Recuento en superficie) se realizaron tres muestreos con tres repeticiones por cada punto de muestreo tanto en la zona urbana como en la zona rural, con una frecuencia de 15 días con un total de 135 muestras. Obteniendo como valor mínimo 0.33 UFC/100mL y como valor máximo 0.67 UFC/100mL, no superando en ningún punto el LMP. También se determinó el número más probable (NMP) de bacterias coliformes totales y fecales, demostrando diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) para las tres evaluaciones realizadas; teniendo como valor mínimo para coliformes totales y fecales 0 NMP/100mL en los puntos CPE, MPE y DPE y como valor máximo 2200 NMP/100mL para el punto PPA (1ra evaluación), 3800 NMP/100mL punto CMA y 3233.33 NMP/100mL punto PPA (2da evaluación) y 4200 NMP/100mL punto PPA (3ra evaluación). Como *Resultados* se lograron identificar 7 especies de enterobacterias en los diferentes puntos de muestreo de agua sin tratar, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter agglomerans*, *Proteus mirabilis*, *Proteus Vulgaris*, *Citrobacter diversus* y *Citrobacter freundii* de esta manera se logra corroborar nuevamente la necesidad del análisis del agua de utilidad en procesos diversos y mayor aun industriales⁵⁷.

2.2. Antecedentes nacionales

a) **Autor:** CLAUDIO MAGALLANES, CESAR CORDOVA Y RITA OROZCO

Título: “ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE MACROALGAS MARINAS DE LA COSTA CENTRAL DEL PERÚ, LIMA 2017”

Resumen: La investigación plantea como objetivo primordial la obtención de los extractos etanoicos de macroalgas marinas de 12 especies, los extractos se obtuvieron bajo un protocolo de Vlachos. La investigación obtuvo como conclusión que algunas de las especies marinas presentan efecto bactericida sobre cepas de *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Aeromonas* y *Vibrio*, siendo el extracto etanoico B.

plumosa quien presentó el mayor efecto antibacteriano contra las dos cepas de *S. aureus* expuesta, manifestándose este resultado en el mayor tamaño de sus halos de inhibición, mientras que el extracto de *P. fascia* mostró mayor espectro antibacteriano, inhibiendo a las 3 cepas mencionadas, con lo expuesto se comprueba y apoya la teoría de que existen algas estudiadas con efecto antibacteriano y cuya extracción han sido derivadas a través de extracciones etanoicas⁵⁸.

b) **Autor:** CAVERO MENDOZA, ÁNGELES GAMERO

Título: “EVALUACIÓN *IN VITRO* DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS EXTRACTOS METANÓLICOS DE LAS ALGAS MARINAS SOBRE CEPAS DE *STREPTOCOCCUS MUTANS*, LIMA 2018”

Resumen: El *Objetivo* principal de la presente investigación fue evaluar *in vitro* el efecto antibacteriano de cuatro extractos metanoicos de *Macrocystis pyrifera*, *Lessonia trabeculata*, *Lessonia nigrescens* y *Chondracanthus chamissoi* sobre *Streptococcus mutans*. La investigación fue de tipo experimental, por cada extracto se realizaron 6 pruebas. Para analizar el efecto antibacteriano de los cuatro extractos se utilizó el *Método* de difusión en pozo de Kirby-Bauer así como la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) las mismas que fueron evaluadas mediante el método de microdilución y el efecto citotóxico fue determinado por el método de MTT, como *Resultados* se obtuvo mayor efecto antibacteriano de los extractos metanólicos de *Lessonia trabeculata* y *Macrocystis pyrifera* sobre cepas de *Streptococcus mutans*, mostrando halos de inhibición de 18.1 mm + 0.75 mm y 12.25 mm + 0.69 mm respectivamente, con ello se comprueba que la técnica empleada es eficiente así como el efecto antibacteriano del extracto agal ante cepas bacterianas²⁹.

c) **Autor:** BENITES GUARDIA, CARMEN ROSARIO

Título: “ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE MACROALGAS ANTÁRTICAS (*HIMANTOTHALLUS GRAMDIFOLIUS* Y *DESMARESTIA CONFEROIDES*) FRENTE A CEPAS DE *YERSINIA RUCKERI*, AISLADAS DE TRUCHA ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*), LIMA, 2019.”

Resumen: El presente estudio tuvo como *Objetivo* principal el evaluar la actividad antibacteriana de extractos crudos obtenidos a partir de las macroalgas antárticas *Himantothallus Gramdifolius* y *Desmarestia confervoides*, frente a cepas de *Yersinia ruckeri*. Para ello fue necesario realizar un análisis fitoquímico preliminar de ambas

macroalgas para determinar la presencia de metabolitos secundarios asociados a la actividad antibacteriana seguidamente se realizaron extracciones sucesivas biodirigidas. Se aplicó la *Metodología* de extracción asistida por ultrasonido y agitación en shaker utilizando tres solventes orgánicos (diclorometano, acetona y metanol) a razón de 1:3 masa/volumen. La investigación logró obtener como *Resultados* que los extractos metanólicos de las dos macroalgas si presentan actividad antibacteriana frente a cepas de *Y. ruckeri*, lo cual estaría asociado a la presencia de metabolitos secundarios, tales como: Flavonoides, Taninos, Fenoles y/o lactonas y otros pigmentos, esta última abre el sustento de la investigación a desarrollar⁵⁹.

2.3. Antecedentes internacionales

a) **Autor:** NURBY R., GERARDO M., JOSE J., CARLS Y., MARIA Y., MARIA L., MARIA G.

Título: “ACTIVIDAD ANTIBACTERINA Y ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS DE ALGAS MARINAS VENEZOLANAS, UNMSM, FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS”

Resumen: La presente investigación tuvo como *Objetivo* principal evaluar las propiedades y características bioactivas antibacterianas y antimicóticas de 33 extractos (etanol, diclorometano, hexano) obtenidos de 11 especies de algas marinas, Las algas se transportaron en hielo hasta el laboratorio de Biotecnología del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, donde se congelaron y almacenaron en un refrigerador hasta su uso. Previo al procesamiento las muestras fueron descongeladas, y limpiadas manualmente con agua destilada para eliminar arena, epífitos y fauna que no pudo ser eliminada en el lavado in situ. La actividad antibiótica y antimicótica de los extractos se evaluó mediante la aparición de halos aplicando la *Metodología* de Kirby Bauer de inhibición contra bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*), Gram negativas (*Pseudomona aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*) y el hongo *Candida albicans*. En los *Resultados* de la presente investigación se determinó que de los 33 extractos ensayados sólo 17 presentaron actividad antibacteriana (5 con etanol, 6 con diclorometano y 6 con hexano), 14 resultaron activos frente a las especies Gram (-) y 4 contra la especie Gram (+). Las especies algales que mostraron actividad antibacteriana fueron: *Acanthophora sp.*, *Bryothamnion triquetrum*, *Gracilaria sp.*, *Gelidium sp.*, *Caulerpa mexicana*, *Caulerpa sp.*, *Caulerpa spp.*, *Halimeda incrassata*, *Ulva*

sp., *Codium decorticatum*, *Sargassum sp* logrando identificar la capacidad de muestras de algas para el efecto antimicótico y bactericida⁵¹.

b) Autor: GONZÁLEZ M, GONZÁLEZ J, ROBLES E, MARTÍNEZ B, SÁINZ M, TOLOSA J, SALAS A.

Título: “CALIDAD BACTERIOLÓGICA DEL AGUA UTILIZADA EN CLÍNICAS ODONTOLÓGICAS”

Resumen: La presente investigación tuvo como *Objetivo* principal el analizar la calidad bacteriológica del agua de 8 clínicas odontológicas de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, determinándose Coliformes fecales y Coliformes totales, por medio de la *Metodología* de filtro de membrana técnica. Ejecutándose las actividades de 2 a 4 muestreos semanales, en cada clínica se tomaron muestras de la jeringa triple y el llena vasos de 10 unidades dentales, además del suministro de entrada. Se tomaron 188 muestras, a cada una se le efectuaron 2 determinaciones (Coliformes totales y Coliformes fecales), haciendo un total de 376 análisis. De las muestras analizadas únicamente 8 presentaron contaminación bacteriana; 7 correspondieron al primer muestreo realizado en la Clínica de Acatlán después de un periodo vacacional.

Como *Resultado* se obtiene que la calidad bacteriológica del agua utilizada en las clínicas odontológicas es buena, lo cual es muy importante, pues ésta entra directamente en contacto con la mucosa de cavidad oral, estructuras dentarias, sangre y saliva del paciente, evitando procesos infecciosos que podrían poner en riesgo su salud integral. A partir de la presente investigación se analiza que la contaminación fue consecuencia del prolongado estancamiento del agua lo que demuestra la calidad buena del agua de las instalaciones, demostrando la importancia del cuidado del agua como medio de transmisión bacteriológica importante⁶⁰.

c) Autor: MEJÍA CLARA MARIO RENÉ

Título: “ANÁLISIS DE LA CALIDAD DEL AGUA PARA CONSUMO HUMANO Y PERCEPCIÓN LOCAL DE LAS TECNOLOGÍAS APROPIADAS PARA SU DESINFECCIÓN A ESCALA DOMICILIARIA, EN LA MICROCUENCA EL LIMÓN, SAN JERÓNIMO, HONDURAS”.

Resumen: El *Objetivo* principal de la presente investigación se orientó en el análisis socio ambiental de la calidad del agua para consumo humano, y determinar la percepción local del

uso de tecnologías apropiadas para desinfección de agua para ello se realizaron diferentes análisis de laboratorio de las principales fuentes de consumo humano mediante parámetros físicos, químicos y bacteriológicos del agua. El estudio tiene alta relevancia y enriquece los conocimientos de nuestra investigación por realizarse en una microcuenca área de agua subterránea que se conecta con una red natural con un caudal continuo o intermitente, la microcuenca estudiada por Mejía presento una unidad geográfica donde habitan familias dedicadas a la agricultura y ganadería. La *Metodología* se fundamentó en la aplicación de análisis cuantitativos con fichas de datos que fueron validadas por la CATIE a partir de análisis de laboratorio de las principales fuentes de consumo del agua, la metodología aplicada fue totalmente participativa, con una organización que involucró a la línea de gerencia, supervisores y trabajadores. Se realizó un análisis de riesgo sobre los acueductos obteniendo como resultado un riesgo medio en todos sus componentes con una clara deficiencia en el sistema de abastecimiento quien tuvo una relación alta con los resultados expuestos a continuación. Se obtuvo una recopilación del conocimiento local del uso y manejo del agua, información que llevó al planteamiento de alternativas y acciones sostenibles para mantener la calidad del agua para consumo dentro de los rangos permitidos por la Norma Técnica Nacional. Como *Resultados* se obtuvo que la calidad del agua se ve perjudicada, por la sedimentación de partículas, la existencia de la turbidez que demostró la alta carga microbiológica con coliformes fecales, un alto deterioro de la salud de los pobladores de la microcuenca, ante el panorama los usuarios muestran poca aceptación de la tecnología de desinfección que se viene aplicando lo que provoca riesgos alarmantes y mínimo apoyo para la rehabilitación de las microcuencas así como el manejo sostenible de la subcuenca del Rio Copan⁸.

CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA

1. Tipo de investigación

La presente es una investigación de campo a su vez presenta experimentos de laboratorio.

2. Nivel de investigación

La investigación es Experimental

3. Técnicas e instrumentos

3.1. Técnicas

✓ Efecto bactericida

La presente investigación aplica la técnica de observación de campo experimental, cuenta con el método de Kirby Bauer³² para la determinación del efecto bactericida, el método en mención cuenta con un alfa de Cronbach de 0,769 (grado de confiabilidad de consistencia interna y promedio de correlaciones) exploración dimanada por Dressendorfer en el año 2005³³.

✓ Efecto conservante

Para la determinación del efecto conservante se aplicó la técnica de observación de campo experimental con el Método de recuento y siembra⁶¹ en superficie el método en mención cuenta con un alfa de Cronbach de 0,758, exploración ejecutada por La Serna S. en el año 2019⁶².

3.2. Instrumentos

✓ Efecto bactericida

Para la técnica de observación de campo experimental, aplicado para la determinación del efecto bactericida, se contó con fichas de registro de datos (Elaborada en forma específica y legítima para el presente estudio) (**Ver ANEXO N°3**).

✓ Efecto conservante

Para la técnica de observación de campo experimental, aplicado para la determinación del efecto conservante, se contó con fichas de registro de datos y Ficha Escalar con escala de categorías (Elaboradas en forma específica y legítima para el presente estudio) (**Ver ANEXO N°3**).

3.3. Materiales y equipos

Cuadro N°01: Materiales y equipos para la Variable N°1

Material / Equipo	Marca / Modelo	Especificaciones técnicas
Extracto bioactivo	-	1.0 de extracto bioactivo 0.5% de extracto bioactivo 0.25% de extracto bioactivo
Suero fisiológico	-	-
Balanza analítica	Marca: Scout Pro Ohaus Modelo: SP202	Sensibilidad: 0.001g
Estufa	Marca: FANEM Modelo: 002CB	Temperatura: 0 – 100°C
Autoclave	Marca: Easter Medical	Horizontal con reciclador de agua
Cocina	-	Eléctrica
Escala de Mc Farland 0.5	-	Ácido sulfúrico + hidróxido de bario
Micropipeta	-	Material: Plástico Volumen: 0.001 – 1mL
Matraz Erlenmeyer	Pyrex	Material: vidrio Volumen: 250mL
Beacker	Pyrex	Material: vidrio Volumen: 250mL
Probeta	Pyrex	Material: vidrio Volumen: 500mL

Placas Petri	Pyrex	Material: vidrio diámetro: 9.5cm
Discos de difusión	-	Material: papel diámetro: 6mm
Tubos de Ensayo	Pyrex	Material: vidrio
Gradilla	-	Material: metal
Varilla	-	Material: vidrio
Pizetas	-	Material: Plástico
Agar en polvo	Necesaria	Agar Mueller Hinton DM1173
Asa driglasky	-	Material: vidrio
Caldo peptonado	-	Bactopectona
Papel filtro	-	-
Otros	-	Parafilm, hisopos, detergente, alcohol, Tibets, guantes, mascarilla, protector facial, protector de botas, etc.

Fuente: Elaboración propia - Arequipa (2020).

Cuadro N°02: Materiales y equipos para la Variable N°2

Material /Equipo	Marca / Modelo	Especificaciones técnicas
Extracto bioactivo	-	0.5% de extracto 0.3% de extracto 0.25% de extracto
Suero fisiológico	-	-
Balanza analítica	Marca: Scout Pro Ohaus Modelo: SP202	Sensibilidad: 0.001g
Contador de colonias	Marca: Quebec	-
Estufa	Marca: FANEM Modelo: 002CB	Temperatura: 0 – 100°C
Autoclave	Marca: Easter Medical	Horizontal con reciclador de agua
Cocina	-	Eléctrica
Escala de Mc Farland 0.5	-	Ácido sulfúrico + hidróxido de bario
Micropipeta	-	Material: Plástico Volumen: 0.001 – 1mL
Matraz Erlenmeyer	Pyrex	Material: vidrio Volumen: 100mL
Beacker	Pyrex	Material: vidrio Volumen: 200mL
Probeta	Pyrex	Material: vidrio

		Volumen: 100mL
Placas Petri	Pyrex	Material: vidrio diámetro: 9.5cm
Mortero	-	Material: cerámica
Tubos de Ensayo	Pyrex	Material: vidrio
Gradilla	-	Material: metal
Varilla	-	Material: vidrio
Pisetas	-	Material: Plástico
Agar en polvo	-	Agar EMB 1039.00 Agar S.S 1.07667.0500
Asa driglasky	-	Material: vidrio
Caldo peptonado	-	RQ0191
Papel filtro	-	-
Otros	-	Cooler, hielo, parafilm, hisopos, Envases de vidrios sellados, Tibets, guantes, mascarilla, protector facial, protector de zapatos, etc.

Fuente: Elaboración propia - Arequipa (2020).

3.4. Análisis u operacionalización de variables e indicadores:

Tabla N°04: Análisis u operacionalización de variables e indicadores

Variables	Indicadores	Subindicadores	Resultados	Instrumentos	Técnicas	Escala	Ítem
<i>Efecto Bactericida del Alga (Ulva spp.)</i>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sensible ▪ Intermedio o Moderadamente sensible ▪ Resistente 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Cepas de Bacterias B₁= <i>E. Coli</i> B₂=<i>Salmonella spp.</i> ▪ Concentración de Extracto Bioactivo CEB₁=1.0% Extracto Bioactivo del Alga <i>Ulva spp.</i> CEB₂=0.5% Extracto Bioactivo del Alga <i>Ulva spp.</i> CEB₃=0.25% Extracto Bioactivo del Alga <i>Ulva spp.</i> 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Tamaño de Halo (mm) 	<ul style="list-style-type: none"> Ficha de Registro de Datos 	<ul style="list-style-type: none"> Observación de Campo experimental – Método de Kirby Bauer 	De Razón	1
<i>Efecto Conservante del Alga (Ulva spp.)</i>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Conservante ▪ Semi-Conservante ▪ Nulo 	<ul style="list-style-type: none"> • Concentración de Extracto Bioactivo. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Recuento de <i>Escherichia coli.</i> 	<ul style="list-style-type: none"> Ficha de Registro de Datos 	<ul style="list-style-type: none"> Observación de Campo experimental - Recuento y 	De Razón	2

aplicado en Agua	CEB ₁ =0.5% de Extracto bioactivo			Siembra en Superficie	
	CEB ₂ =0.3% de Extracto bioactivo	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Recuento de <i>Salmonella spp.</i> ▪ Color ▪ Olor ▪ Viscosidad 	Ficha de Registro de Datos	Observación de Campo experimental - Recuento y Siembra en Superficie	
	CEB ₃ =0.25% de Extracto bioactivo		Ficha Escalar con escalas de categoría ^{63,64}	Observación Directa	
	• Tiempo de Exposición a T° amb del Agua		Ficha Escalar con escalas de categoría	Observación Directa	
	T ₁ =1 día		Ficha Escalar con escalas de categoría	Observación Directa	
T ₂ =5 días					
T ₃ =10 días					

Fuente: Elaboración Propia (2020).

4. Campo de verificación

4.1. Ubicación espacial:

La presente investigación se desarrolló en la provincia de Camaná, del distrito de Cercado y el Anexo de Uchumallo, del departamento de Arequipa del Perú, contando específicamente con las instalaciones del fundo privado “Matuare”, lugar donde se desarrolló el muestreo y análisis central de la Tesis.

Ilustración N°6: Mapa de la provincia de Camaná



Fuente: Google Maps (2020).

Ilustración N°7: Ubicación de puntos de muestreo



Fuente: Google Maps (2020).

4.2. Ubicación temporal

El estudio e investigación se realizó en forma permanente durante los meses comprendidos entre mayo y noviembre del 2020 siendo un estudio coyuntural.

4.3. Unidades de estudio

Los puntos de recepción de las muestras de agua se desarrollaron en el fundo privado de la provincia de Camaná. Las muestras de agua fueron tomadas exactamente del dren del fundo privado “Matuare” a una profundidad promedio de 15cm^{33,35,40}.

4.4. Muestra

Se contó con muestras aleatorias, con 385 muestras requeridas para la investigación, contando con 5 repeticiones por cada tratamiento experimental y 10 repeticiones por cada tratamiento sensorial.

- *Cálculo para la determinación del tamaño de muestra:*
 - Para determinar el tamaño de muestra se utilizó el muestreo aleatorio simple para muestras infinitas, según la siguiente fórmula:

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 * p * q}{e^2}$$

Donde:

- n = tamaño de la muestra.
- p = Probabilidad de que ocurra el evento estudiado
- q = (1 – p) = Probabilidad de que no ocurra el evento estudiado
- e = Error de estimación máximo aceptado.
- Z (alfa) = valor obtenido mediante niveles de confianza.

Aplicando el Cálculo

- n = 385
- p = 50%
- q = 50%
- e = 0.05 (5% de margen de error)
- Z (alfa) = 1,960

- **Criterios de Inclusión:**
 - *Muestras extraídas a 15cm de profundidad del dren Matuare – fundo privado*
- **Criterios de Exclusión:**
 - *Muestras extraídas del dren Matuare donde no se emplee el agua con fines de producción e higiene del fundo privado*

5. Estrategia de recolección de datos

5.1. Organización

Para fines de la recolección de datos, se requirió del permiso de la Gerencia del fundo privado ubicado en la provincia de Camaná, así mismo se realizó las coordinaciones con los supervisores del Fundo y se solicitó el empleo de los laboratorios e instalaciones.

En concordancia con lo solicitado por las partes tanto de la Gerencia del fundo privado como de los supervisores se programó un cronograma de fechas y horarios para la intervención de las etapas de la investigación.

Para el desarrollo del experimento N°2 fue necesario contar con especialistas panelistas quienes fueron capacitados previamente para el desarrollo de las fichas Escalares.

5.2. Validación de los instrumentos

Los instrumentos fueron validados mediante un Juicio de Expertos. El equipo de expertos estuvo conformado por: un investigador (Dra. Lais Reinoso), un doctor en salud pública (Dra. María Elena Torreblanca), y un ingeniero Biotecnólogo (Ing. Karen Dávila). Adicionalmente se determinó la consistencia de los instrumentos mediante el coeficiente Alfa de Cronbach, teniendo como resultado 0,819 para la determinación del efecto bactericida y un valor de 0,802 para la determinación del efecto conservante.

5.3. Criterios para manejo de resultados

5.3.1. Plan de procesamiento

Las muestras fueron previamente codificadas, los datos fueron registrados en cada una de las fichas y tabulados para su análisis estadístico y su posterior interpretación.

5.3.2. Plan de análisis

Se aplicó un diseño Experimental, con un diseño estadístico Factorial de Bloques completamente al azar con 10 panelistas semientrenados (**Ver protocolo en ANEXO N°1**) con aplicación de Análisis de Varianza (ANVA), si existiera una diferencia significativa entre los tratamientos se aplicó una prueba de comparación de medias (Tuckey), así mismo se aplicó un diseño estadístico factorial completamente al azar con arreglos aplicando

Análisis de Varianza (ANVA) de igual manera si existiera una diferencia significativa entre los tratamientos se aplicó una prueba de comparación de medias (Tuckey).

5.4. Evaluación de Materia Prima alga (*Ulva spp.*)

Fue necesario conocer el estado inicial de la materia prima para ello se estableció los análisis organolépticos, análisis fisicoquímico y análisis químico – proximal del alga (*Ulva spp.*).

Fue necesario de cada extracto del alga *Ulva spp.* obtenidos bajo el procedimiento de separación de los pigmentos del cloroplasto:

a. Método de separación de los pigmentos del cloroplasto⁴¹

Se mezcló 100g de alga *Ulva spp.* triturada con 80mL de acetona en un embudo de separación y se le añadió 50mL de éter de petróleo, cuidadosamente se agitó por 10 minutos para su posterior reposo por 15min, se logró observar la separación de dos capas.

En la capa superior se encontró los pigmentos del alga disueltos en éter de petróleo y en la capa inferior se halló la mezcla con acetona, el procedimiento se efectuó a temperatura ambiente (20°C).

Se descartó la capa inferior abriendo la llave del embudo y se retuvo solo la porción superior, se lavó esta última porción con procesos sucesivos de agua destilada.

Posteriormente se añadió 40mL de metanol al 90% provocando dos capas nuevamente, la capa superior contuvo al éter con la clorofila a y el caroteno. Mientras que la capa inferior mantuvo a la clorofila b y xantofila disuelta en metanol.

La porción inferior se transfirió a un embudo de decantación cuidadosamente, para luego añadir 40mL de éter etílico y proseguir con el lavado con agua destilada tres veces descartando la porción inferior la misma que contuvo metanol y agua.

La clorofila b y la xantofila se encontraron en un extracto de éter por lo que se dejó reposar por 15min, finalmente se añadió 20mL de agua y se observó dos capas, la capa superior contuvo xantofila y la inferior clorofila b. Seguidamente se determinó el contenido de clorofila b del alga *Ulva spp.*⁴⁴.

a.1. Método para la determinación de Clorofila b^{4,4,41}

Fue importante considerar que la concentración de clorofila b en una suspensión de cloroplastos o de algas intactas se puede determinar midiendo la densidad óptica en extracto de metanol, etanol u otros. Se centrifugó 5mL del extracto de clorofila b y se decantó, posteriormente se realizaron tres lavados con agua destilada y se destiló en el rotavapor hasta

obtener la clorofila b concentrada y purificada para la generación de las concentraciones en agua destilada.

Finalmente se aplicó el cálculo de *Warburg* y *Machinney*

La densidad óptica se determinó a 665 nm (DO 665) y a 650 nm (DO 650), que es la absorción máxima para la clorofila b:

○ Cálculos:

$$\frac{0.0338 \times DO\ 650 - 0.0125 \times DO\ 665}{1} = \text{mg de clorofila b / (ml de extracto)}$$

5.5. Evaluación de agua del fundo privado

Se desarrolló análisis microbiológico de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* al agua del fundo privado, a través del método de recuento y siembra en superficie en medio sólido, por otro lado se estableció un análisis organoléptico del agua del fundo privado, evaluando el color, olor y viscosidad.

a. Método de recuento y siembra en superficie⁶⁵

Se dividió en 2 partes:

Enriquecimiento no selectivo en medio liquido (I):

Donde se mezcló 10mL de agua del fundo privado y 90mL SSP (solución salina peptonada), se homogenizó la mezcla lentamente.

Enriquecimiento Selectivo en medio solido (II):

Se desarrolló la siembra por superficie. Se preparó el medio nutritivo según la norma técnica del agar EMB para *Escherichia coli* y *Salmonella Shiguella* para *Salmonella spp.*

Las cantidades en gramos fueron llevadas a dilución. Seguidamente se trasladó la dilución a un matraz y se procedió a elevar la temperatura hasta 90°C durante 1min, se tomó en cuenta la esterilización solo para el agar EMB sometiéndolo a 121°C por 45min.

Se prepararon las placas Petri con agar EMB (coloración rojo claro), agar específico para *Escherichia Coli* y agar *Salmonella-Shiguella* (coloración amarilla), agar específico para *Salmonella spp.* Se procedió a extraer 0.1mL de la solución anterior (I) y por siembra en extensión con una espátula driglasky se incubó por 48 horas a 37°C.

• Recuento:

Transcurrido el tiempo necesario se analizaron las placas y observaron las colonias formadas, con el apoyo del contador de colonias.

Se consideró *Salmonella spp.* positivo en agua del fundo privado a la coloración de colonias rosadas hasta negras con bordes claros.

Mientras que *Escherichia coli* positivo en agua del fundo privado mostró una coloración verde metálico propia de la producción de ácido láctico.

5.6. Experimento N°1

5.6.1. Descripción

Se desarrolló el Experimento N°1 cumpliendo los parámetros del Método de Sensibilidad antimicrobiana el mismo que está fundamentado a través de Método de Disco Difusión instruido por el Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana del Instituto Nacional de Salud²⁰.

Las cepas donde se aplicaron los extractos fueron una cepa de *Escherichia coli* y una cepa de *Salmonella spp.* el método con el que se trabajó es el método de difusión en discos (Kirby-Bauer).

Para la aplicación del método de difusión en discos fue necesario preparar el medio de cultivo (Agar *Mueller Hinton*, medio de cultivo enriquecido, orientado esencialmente para hacer ensayos de sensibilidad).

Posteriormente se aislaron colonias, de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* en fase logarítmica comprobada a través de la escala de *Mc Farland* (escala que afirma la existencia de cepas en cantidad de 10^8 ufc). Se inició la siembra hisopando en tres direcciones en el medio previamente preparado con Agar *Mueller Hinton*, se rotuló la placa y dibujó cuatro secciones donde se colocaron los discos de papel filtro (6mm de diámetro), con ayuda de pinzas esterilizadas se sumergió cada disco en la concentración de extracto (1%, 0.5%, y 0.25%). El extracto concentrado hallado en el papel filtro generalizó desde el papel al agar de forma radial su bioactivo. Se incubó dentro de los 15min posteriores a que los discos fueron aplicados.

La incubación de las cepas bacterianas se llevó a cabo a 35°C en un rango de tiempo de 18h (fue necesario controlar la temperatura debido a que temperaturas por debajo disminuyen la velocidad del crecimiento de la bacteria y la difusión del extracto, teniendo como consecuencia halos irregulares difíciles de medir)²⁰.

Finalizado el tiempo fue necesario observar el tamaño de halo en milímetros el mismo que bordeaba al disco de difusión, con este último se comprobó la sensibilidad bactericida, interpretándose de acuerdo a tablas³³.

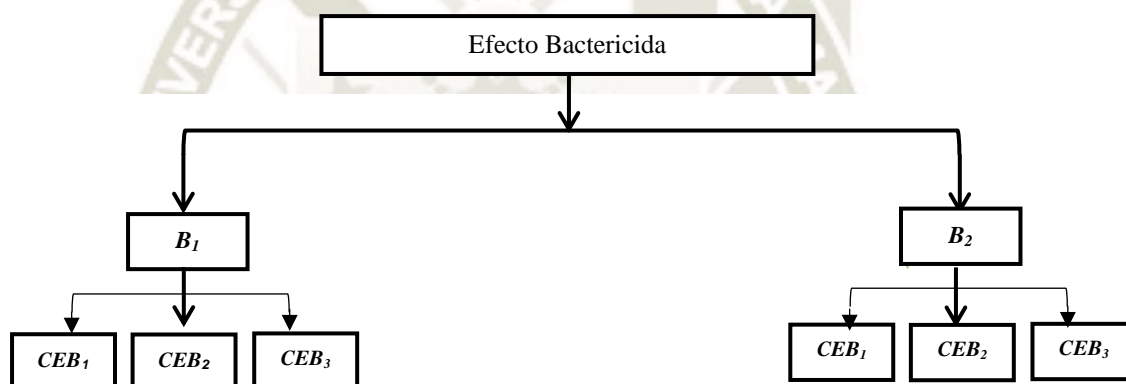
Es necesario recordar que los indicadores se expresan a través de Sensible (S), Intermedio o Moderadamente Sensible (I) y Resistente (R).

NOTA: Para la descripción de los antibiogramas aplicados en *Enterobacteriaceae* es necesario Ver ANEXO N°2.

5.6.2. Diseño experimental: Análisis estadístico

Se ejecutó un experimento factorial completamente al azar con arreglo de 2 x 3 aplicando Análisis de Varianza (ANVA), con aplicación de una prueba de comparación de medias (Tuckey) para la diferencia entre los resultados de cada tratamiento. Se realizó análisis de factores para la diferencia entre tratamientos B x CEB.

5.6.3. Diagrama experimental



✓ Leyenda

▪ Cepas de Bacterias: B

B₁= *E. Coli*

B₂=*Salmonella spp.*

▪ Concentración de Extracto Bioactivo: CEB

CEB₁=1.0% Extracto Bioactivo del Alga *Ulva spp.*

CEB₂=0.5% Extracto Bioactivo del Alga *Ulva spp.*

CEB₃=0.25% Extracto Bioactivo del Alga *Ulva spp.*

5.7. Experimento N°2

5.7.1. Descripción

El presente experimento N°2 se basa directamente en el efecto conservante al aplicar el alga *Ulva spp.* en el agua que se utiliza en el fundo privado de la provincia de Camaná. Se desarrolló el recuento de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* y análisis organoléptico de olor, color y viscosidad a diferentes días (1, 5, y 10 días) con el soporte de panelistas semientrenados^{63,64,66}.

Se requirió de muestras de 100mL de agua extraída a 15 cm de profundidad del dren del fundo privado, las muestras fueron analizadas a temperatura ambiente.

Se aplicó los extractos de alga *Ulva spp.* a las concentraciones suscritas (0.5%, 0.30% y 0.25%) formuladas en agua del fundo privado.

Las formulaciones se llevan a cabo en tubos de ensayo generando la homogeneidad de la mezcla por 1min.

Posteriormente las muestras fueron selladas y aisladas a una temperatura ambiente para su posterior análisis, organoléptico y microbiológico, según los tiempos respectivos (1, 5 y 10 días).

Es importante expresar que el experimento N°2 requirió de un primer análisis del estado microbiológico del agua del fundo privado de la provincia de Camaná sin bioactivo, considerando cada uno de los criterios de inclusión expuestos en el punto 4.4 (Muestras).

El análisis microbiológico desarrollado para el agua del fundo privado sin bioactivo se sostuvo en el recuento de cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* a través del método de recuento y siembra en superficie en un medio sólido.

Se procedió a almacenar 100mL de muestra de agua del fundo privado de la provincia de Camaná a temperatura ambiente del ecosistema de recepción para representar el comportamiento natural del habitat.

El almacenamiento se llevó durante diez días, ejecutando análisis microbiológico de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* al primer, quinto y décimo día de almacenamiento.

El recuento de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* en las muestras de agua del fundo privado de la provincia de Camaná sin bioactivo del alga *Ulva spp.* desencadena la comparación con el efecto conservante por ello su necesidad de aplicación y reconocimiento del estado inicial del agua del Fundo.

El Método de análisis que se aplicó para la determinación de Recuento de microorganismos tanto para *Escherichia coli* como *Salmonella spp.* es el método de Recuento y siembra en

superficie, cuyo procedimiento se basa en un medio selectivo sólido⁶⁵ explicado a continuación.

a. Método de recuento y siembra en superficie⁶²

Se fundamentó también en dos enriquecimientos

Enriquecimiento no selectivo en medio líquido (I):

Donde se mezcló 10mL de la muestra de estudio (agua del fundo privado y extracto bioactivo de alga *Ulva spp.*) y 90mL SSP (solución salina peptonada), se homogenizó la mezcla lentamente.

Enriquecimiento Selectivo en medio sólido (II):

Se desarrolló la siembra por superficie. Se preparó el medio nutritivo según la norma técnica del agar EMB para *Escherichia coli* y Salmonella Shiguella para *Salmonella spp.*

Las cantidades en gramos fueron llevadas a dilución. Seguidamente se trasladó la dilución a un matraz y se procedió a elevar la temperatura hasta 90°C durante 1min, se tomó en cuenta la esterilización solo para el agar EMB sometiéndolo a 121°C por 45min.

Se prepararon las placas Petri con agar EMB (coloración rojo claro), agar específico para *Escherichia Coli* y agar Salmonella-Shiguella (coloración amarilla), agar específico para *Salmonella spp.* Se procedió a extraer 0.1mL de la solución anterior (I) y por siembra en extensión con una espátula driglasky se incubó por 48 horas a 37°C.

- **Recuento:**

Transcurrido el tiempo necesario se analizaron las placas y observaron las colonias formadas, con el apoyo del contador de colonias.

Se consideró *Salmonella spp.* positivo a la coloración de colonias rosadas hasta negras con bordes claros.

Mientras que *Escherichia coli* positivo mostró una coloración verde metálico propia de la producción de ácido láctico.

Se consideró como ausencia a las coloraciones fuera de los parámetros.

5.7.2. Diseño experimental: Análisis estadístico

El Experimento N°2 requirió de dos procesos estadísticos:

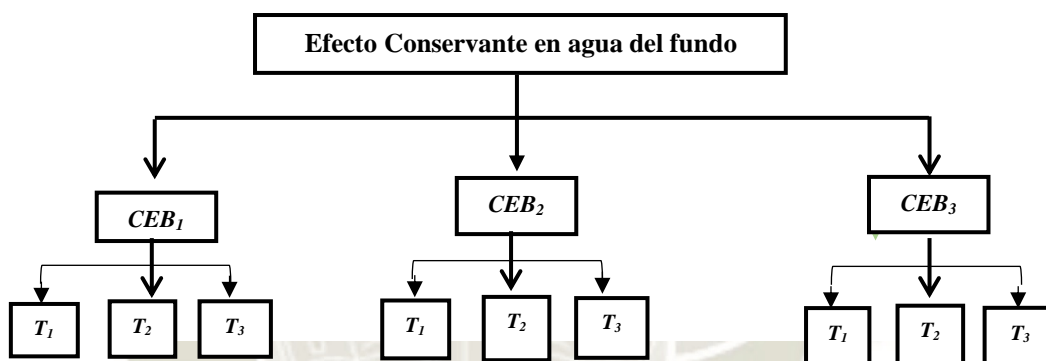
Uno para los datos derivados de la Ficha de registro de datos y el siguiente para la Ficha escalar con escalas de categorías.

Para los datos derivados de la Ficha de registro de datos se ejecutó un experimento factorial completamente al azar con arreglo de 3 x 3 aplicando Análisis de Varianza (ANVA), y una

prueba de comparación de medias (Tuckey) para la diferencia entre los resultados de cada tratamiento. Se realizó análisis de factores para la diferencia entre tratamientos CEB x T. Para los datos obtenidos a partir de la Ficha escalar con escalas de categorías, se ejecutó un diseño estadístico Factorial de bloques completamente al azar con 10 panelistas semi entrenados (Ver protocolo de entrenamiento en **ANEXO N°1**) con aplicación de Análisis de Varianza (ANVA) y una prueba de comparación de medias (Tuckey) para la diferencia entre los resultados de cada tratamiento.

Se realizó análisis de factores para la diferencia entre tratamientos CEB x T.

5.7.3. Diagrama experimental



✓ Leyenda

- Concentración de Extracto Bioactivo: CEB
 CEB₁=0.5% de Extracto bioactivo
 CEB₂=0.3% de Extracto bioactivo
 CEB₃=0.25% de Extracto bioactivo

- Tiempo de Exposición a T°amb del agua
 T₁=1 día
 T₂=5 días
 T₃=10 días

CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Resultados

1.1. Evaluación de materia prima: Alga (*Ulva spp.*)

Para la evaluación de la materia prima del agua *Ulva spp.* se realizó un análisis organoléptico de color, olor, sabor y textura al alga *Ulva spp.* extraída de las playas los Pingüinos y playa Hermosa del distrito de Marcona provincia Ica, los resultados se pueden observar en el Cuadro N°03. Seguidamente se realizó un análisis fisicoquímico al extracto del alga *Ulva spp.* demostrado en el Cuadro N°04 comprobando su óptimo estado con el valor de acidez por debajo de 0.01%, así como una cantidad interesante de sólidos disueltos que se contrasta con el análisis químico proximal evidenciado en el Cuadro N°05.

El valor de clorofila b expuesto en el Cuadro N°05 evidencia un contenido sobresaliente de 53.31mg en 100mL de extracto de alga *Ulva spp.* a diferencia del alga de la spirulina⁶⁷ con 1.15mg en 100mL lo que motiva a su aplicación en la determinación del efecto bactericida.

1.1.1. Análisis organoléptico del alga (*Ulva spp.*)

Cuadro N°03: Resultados del análisis organoléptico del alga (*Ulva spp.*)

Características	Descripción
Color	Verde Claro
Olor	Característico a Alga
Sabor	Neutro
Textura	Lisa con bordes rizoides

Fuente: Elaboración Propia – Arequipa (2020).

1.1.2. Análisis fisicoquímico del alga (*Ulva spp.*)

Cuadro N°04: Resultados del análisis fisicoquímico del alga (*Ulva spp.*)

Características	Magnitud
°Brix	2.96
%Acidez	<0.01
pH	7.04
Densidad	1.0191g/mL

Fuente: Elaboración Propia – Arequipa (2020).

1.1.3. Análisis químico – proximal del alga (*Ulva spp.*)

Cuadro N°05: Resultados del análisis químico proximal del alga (*Ulva spp.*)

Componente	Descripción	Resultado (%)
Proteína (%)	Método Kjeldahl, A.O.A.C Official Methods of Analysis 13 th Edition, 1984	2.37%
Grasa (%)	Adaptado del Metodo gravimétrico NTP 209.263.2001	3.49%
Humedad (%)	Official Methods of Analysis. 1990. Association of Official Analytical Chemists. 15th ed. Vol. II. Method 925.45D. USA p. 1010 - 1011	88.69%
Ceniza (%)	Método Gravimétrico adaptado de NTP 209.263.2001	3.05%
Fibra Cruda (%)	Adaptado de NTP 205.003.1980	0.93%
Hidrato de Carbono	Por cálculo de diferencia	1.47%
Clorofila b	Método de Machinney	0.05331mg/mL de extracto*

Fuente: Elaboración Propia – Arequipa (2020).

1.2. Evaluación de agua del fundo privado

Se determinó el estado microbiológico del agua utilizada en el Fundo Matuare evidenciado en la Tabla N°05, para ello se estableció el recuento de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* con cinco repeticiones en cada uno de los casos.

1.2.1. Análisis microbiológico del agua utilizada en el fundo privado

Tabla N°05: Resultados del análisis microbiológico del agua utilizada en el fundo privado (Método de recuento y siembra en superficie)

Microorganismos	Recuento (ufc/g)
<i>Escherichia coli</i>	1 x 10 ³ ufc/g
	1 x 10 ³ ufc/g
	1 x 10 ³ ufc/g
	1 x 10 ³ ufc/g
	1 x 10 ³ ufc/g
	\bar{x} 1 x 10 ³ ufc/g
<i>Salmonella spp.</i>	2 x 10 ¹ ufc/g
	2 x 10 ¹ ufc/g
	2 x 10 ¹ ufc/g

	2 x 10 ¹ ufc/g
	2 x 10 ¹ ufc/g
\bar{x}	2 x 10 ¹ ufc/g

Fuente: Elaboración Propia – Arequipa (2020).

Nota: El método aplicado es el Método de Recuento y Siembra en Superficie, los resultados son derivados del análisis microbiológico en el día 0 (sin almacenamiento).

1.2.2. Análisis organoléptico del agua utilizada en el fundo privado

Cuadro N°06: Resultados del análisis organoléptico del agua utilizada en el fundo privado

Características	Descripción
Color	Turbio, con destellos marrones
Olor	Característico a tierra húmeda
Viscosidad	Aceptable

Fuente: Elaboración Propia – Arequipa (2020).

Nota: Se estableció un análisis sensorial para control de calidad, con método escalar con escalas de categoría⁶⁸

1.2.3. Interpretación de los resultados

El análisis microbiológico expuesto en la Tabla N°05, para muestras de agua del fundo privado de la provincia de Camaná demuestra claramente la existencia de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* sobrepasando los estándares nacionales de calidad ambiental para agua descritos en la categoría 3 y categoría 1 del DS.N°002-2008-MINAM, DS.N°015-2015-MINAM y DS.N°004-2017-MINAM, por lo que sus características iniciales no reúnen las condiciones para ser destinadas al consumo humano sin desinfección, (punto A1, de la subcategoría A – Categoría 1 del DS.N°004-2017-MINAM), por otro lado el agua no reúne las características para ser destinada al riego de plantas, frecuentemente de porte herbáceo (Subcategoría D1-Categoría 3 del DS.N°004-2017-MINAM). El análisis Organoléptico expuesto en el Cuadro N°06 evidencia características de color propias de agua contaminada, la turbidez y los destellos marrones hallados en la coloración del agua fundamentan la reacción de la bacteria Gram negativa para la generación de energía química a través de la obtención de ATP⁶⁹, FADH₂ y NADH^{24,70} las dos moléculas últimas con características

esenciales en la supervivencia de la célula bacteriana, por lo que se comprueba la existencia de cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.*

1.3. Experimento N°01: Efecto bactericida del alga (*Ulva spp.*)

1.3.1. Resultados y análisis de resultados

Se determinó la concentración óptima de extracto del alga *Ulva spp.* donde se deriva la mayor sensibilidad bactericida sobre cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.*

1.3.1.1. Tamaño de halo (mm)

Cuadro N°07: Resultados del efecto bactericida del alga (*Ulva spp.*)
(Método de difusión en discos)

Prueba	Rep.	Efecto Bactericida del Alga (<i>Ulva spp.</i>)					
		B ₁ = <i>Escherichia coli</i>			B ₂ = <i>Salmonella spp.</i>		
		CEB ₁	CEB ₂	CEB ₃	CEB ₁	CEB ₂	CEB ₃
Tamaño de halo (mm)	1	16.5	15.9	15.8	15.4	15.3	15.2
	2	16.4	15.9	16	15.3	15.4	15.3
	3	16.5	16	15.9	15.2	15.3	15.1
	4	16.4	15.9	15.9	15.3	15.5	15.4
	5	16.4	16	15.8	15.4	15.3	15.3
	\bar{x}	16.44	15.94	15.88	15.32	15.36	15.26

Fuente: Elaboración Propia – Arequipa (2020).

Nota: El método aplicado es el Método de Difusión en Discos.

✓ **Leyenda:**

▪ Cepas de Bacterias: B

B₁= *E. Coli*

B₂=*Salmonella spp.*

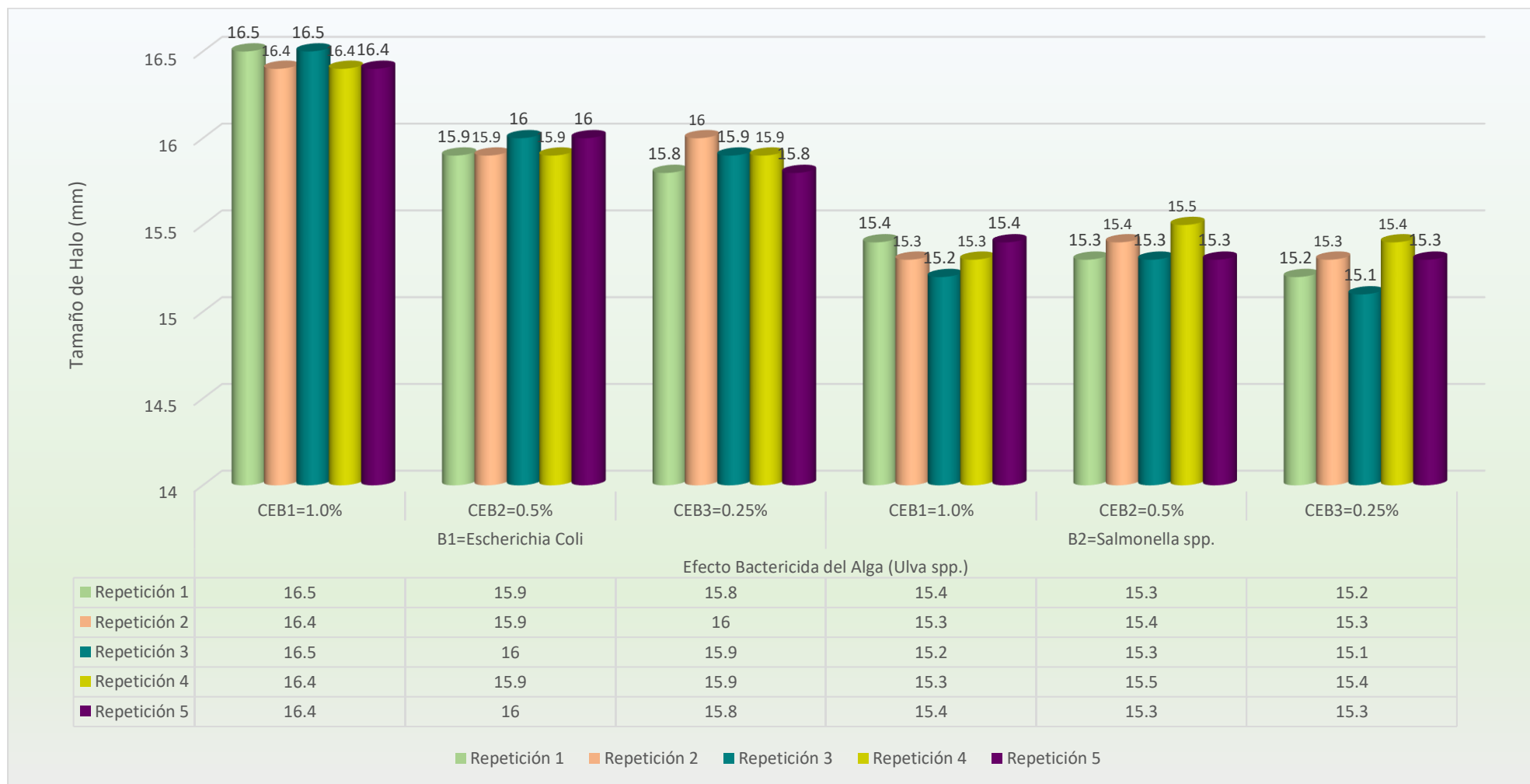
▪ Concentración de Extracto Bioactivo: CEB

CEB₁=1.0% Extracto Bioactivo del Alga *Ulva spp.*

CEB₂=0.5% Extracto Bioactivo del Alga *Ulva spp.*

CEB₃=0.25% Extracto Bioactivo del Alga *Ulva spp.*

Gráfica N°01: Resultados de efecto bactericida del alga (*Ulva spp.*)



Fuente: Elaboración Propia – Arequipa (2020).

✓ ANVA

Tabla N°06: Análisis de varianza para evaluar el efecto bactericida

ANVA	GL	SC	CM	Fc	Ft (1%)
Microrganismos	1	4.485	4.4853	656.3902	9.33
Concentraciones	2	0.5180	0.2590	37.9024	6.93
B x CEB	2	0.4527	0.2263	33.1220	6.93
Error Exp.	24	0.1640	0.0068		
TOTAL	29	5.6200			

Fuente: Elaboración Propia – Arequipa (2020).

GL: Grado de Libertad, SC: Suma de Cuadrados, CM: Cuadrados Medios, Fc: Valor calculado, Ft: Valor de Tablas con un nivel de significancia del 1%

✓ Análisis de factores

Tabla N°07: Análisis de factores B x CEB

FV	GL	SC	CM	FC	Ft(1%)
Sc B CEB₁	1	3.1360	3.1360	229.4634	9.33
Sc B CEB₂	1	0.8410	0.8410	61.5366	9.33
Sc B CEB₃	1	0.9610	0.9610	70.3171	9.33
Sc B₁CEB	2	0.9453	0.4727	34.5854	6.93
Sc B₂CEB	2	0.0253	0.0127	0.9268	6.93
Error Exp.	12	0.1640	0.0137		

Fuente: Elaboración Propia – Arequipa (2020).

✓ Tuckey

Tabla N°08: Tuckey para concentraciones

III-I =	15.8800	-	15.5700	=	0.3100	>	0.1320
III-II =	15.8800	-	15.6500	=	0.2300	>	0.1320
II-I	15.6500	-	15.5700	=	0.0800	<	0.1320

Fuente: Elaboración Propia – Arequipa (2020).

III	II	I
CEB1	CEB2	CEB3

✓ Interpretación de los resultados

El Análisis de Varianza (ANVA) expresa resultados estadísticos con diferencia altamente significativa (Ft al 1%) para los tratamientos con cepas de bacterias (*Escherichia coli* y *Salmonella spp.*) y para las concentraciones (1%, 0.5% al 0.25%), así como para los Factores, lo que desencadena un análisis de Tuckey para concentraciones y un análisis de factores B x CEB.

En el análisis de factores (B x CEB) se evidenció que existe diferencia altamente significativa en los resultados de tamaño de halo entre las cepas de bacterias y la concentración 1, concentración 2 y concentración 3, por lo que al evaluar la sensibilidad de *Escherichia coli* a una concentración de 1%, 0.5% y 0.25% se obtuvo resultados de tamaño de halo diferente que la cepa de *Salmonella spp.* los valores de tamaño de halo para la cepa de *Escherichia coli* fueron superiores en 1.12mm, ello se fundamenta a través del intercambio de oxígeno reactivo donde el desequilibrio se desarrolla a mayor velocidad en la bacteria Gram negativa *Escherichia coli* que en *Salmonella spp.* se puede argumentar por el menor contenido de NADH⁷¹ que posee la cepa de *Escherichia coli*⁷², por la menor longitud de capa externa (50°A) y sobre todo por la capacidad Anti-fagocítica de la bacteria *Salmonella spp.* que condiciona al fitol⁷³.

El análisis de factores expresa que no existe diferencia altamente significativa entre los resultados de tamaño de halo de la cepa de *Salmonella spp.* expuesta ante las tres concentraciones, evidenciando que el exponerla a una concentración de 0.25% de bioactivo tendrá el mismo efecto sensible que el tratamiento a 1% de extracto bioactivo de alga (*Ulva spp.*).

El análisis de Tuckey efectuado para las concentraciones permiten conocer que no existe diferencia altamente significativa entre los tratamientos con las concentraciones CEB₂ y CEB₃. Finalmente, los resultados de tamaño de halo obtenidos a partir de las cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* demostraron alta sensibilidad, todos los valores superaron los 15mm límite para ser catalogado como sensible²⁰ (Norma Técnica N°30-2002-MINSA, Ver ANEXO N°2) y aceptar el efecto bactericida del alga (*Ulva spp.*).

1.4. Experimento N°02: Efecto conservante del alga (*Ulva spp.*) aplicado en agua

1.4.1. Resultados y análisis de resultados

Se determinó el efecto conservante del Alga *Ulva spp.* aplicado en Agua utilizada en el fundo privado. Se determinó la concentración óptima del extracto bioactivo para conservar las características microbiológicas y organolépticas.

- ✓ Recuento de *Escherichia coli*
- ✓ Recuento de *Salmonella spp.*
- ✓ Olor
- ✓ Color
- ✓ Viscosidad

Tabla N°09: Resultados del análisis microbiológico del agua utilizada en el fundo privado (Método de recuento y siembra en superficie) – sin extracto bioactivo

Microorganismos	Recuento (ufc/g)		Recuento (ufc/g)		Recuento (ufc/g)	
	1 día		5 día		10 día	
<i>Escherichia coli</i>	1 x 10 ⁶ ufc/g		1 x 10 ⁷ ufc/g		1 x 10 ¹⁰ ufc/g	
	1 x 10 ⁵ ufc/g		1 x 10 ⁷ ufc/g		1 x 10 ¹⁰ ufc/g	
	1 x 10 ⁵ ufc/g		1 x 10 ⁷ ufc/g		1 x 10 ¹⁰ ufc/g	
	1 x 10 ⁵ ufc/g		1 x 10 ⁷ ufc/g		1 x 10 ¹⁰ ufc/g	
	1 x 10 ⁵ ufc/g		1 x 10 ⁷ ufc/g		1 x 10 ¹⁰ ufc/g	
	\bar{x}	1 x 10 ⁵ ufc/g	\bar{x}	1 x 10 ⁷ ufc/g	\bar{x}	1 x 10 ¹⁰ ufc/g
<i>Salmonella spp.</i>	1x 10 ² ufc/g		1x 10 ⁴ ufc/g		1x 10 ⁷ ufc/g	
	1x 10 ² ufc/g		1x 10 ⁴ ufc/g		1x 10 ⁷ ufc/g	
	1x 10 ² ufc/g		1x 10 ⁴ ufc/g		1x 10 ⁷ ufc/g	
	1x 10 ² ufc/g		1x 10 ⁴ ufc/g		1x 10 ⁷ ufc/g	
	1x 10 ¹ ufc/g		1x 10 ⁴ ufc/g		1x 10 ⁷ ufc/g	
	\bar{x}	1x 10 ² ufc/g	\bar{x}	1x 10 ⁴ ufc/g	\bar{x}	1x 10 ⁷ ufc/g

Fuente: Elaboración Propia – Arequipa (2020).

Nota: El método aplicado es el Método de Recuento y Siembra en Superficie, los resultados son derivados del análisis microbiológico a temperatura ambiente.

1.4.1.1. Recuento de *Escherichia coli*

Cuadro N°08: Resultado del recuento de *Escherichia coli* para el efecto conservante (*Ulva spp.*) aplicado en agua del fundo privado

Evaluación	Rep.	Efecto Conservante del Alga (<i>Ulva spp.</i>) aplicado en Agua del fundo privado								
		CEB ₁			CEB ₂			CEB ₃		
		T ₁	T ₂	T ₃	T ₁	T ₂	T ₃	T ₁	T ₂	T ₃
Recuento de <i>Escherichia coli</i>	1	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	2	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	3	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	4	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	5	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Fuente: Elaboración Propia – Arequipa (2020).

Nota: El método aplicado para los resultados mostrados en el **Cuadro N°08** fue el Método de Siembra y Recuento en superficie en un medio sólido.

✓ **Leyenda:**

- Concentración de Extracto Bioactivo: CEB

CEB₁=0.5% de Extracto bioactivo

CEB₂=0.3% de Extracto bioactivo

CEB₃=0.25% de Extracto bioactivo

- Tiempo de Exposición a T°amb del agua

T₁=1 día

T₂=5 días

T₃=10 días

✓ **Interpretación de los resultados**

Los resultados expuestos en la Cuadro N°08 evidencia el efecto conservante al tratar el agua, del fundo privado de la provincia de Camaná, con el extracto bioactivo de alga *Ulva spp.* a tres concentraciones (0.5%, 0.3% y 0.25%), el efecto conservante se evidencia en los tres días, teniendo como resultado ausencia para el primer día, quinto día, y décimo día. Si analizamos lo expuesto en el Tabla N°09, donde se realizó el análisis microbiológico del agua del fundo privado en los tres días sin extracto bioactivo, se precisa que el agua del fundo privado cuenta con cepas de *Escherichia coli* desarrollándose en fase logarítmica desde 1×10^5 a 1×10^{10} , los valores no cumplen con los estándares^{74,75} nacionales de calidad ambiental para el agua expuesto en el D.S N°002-2008-MINAM, D.S N°015-2015-MINAM

y D.S N°004-2017-MINAM para aguas de categoría 1 y categoría 3, por lo que continuar con el panorama existente seguirá provocando infecciones y alteraciones a la salud de los trabajadores del fundo privado así como baja producción. Finalmente se demuestra el efecto conservante de las tres concentraciones de extracto bioactivo de alga *Ulva spp.* ante cepa de *Escherichia coli*, sustentado por la acción del fitol quien induce el estrés oxidativo en la bacteria Gram negativa.

1.4.1.2. Recuento de *Salmonella spp.*

Cuadro N°09: Resultado del recuento de *Salmonella spp.* para el efecto conservante (*Ulva spp.*) aplicado en agua del fundo privado

Evaluación	Rep.	Efecto Conservante del Alga (<i>Ulva spp.</i>) aplicado en Agua del fundo privado								
		CEB ₁			CEB ₂			CEB ₃		
		T ₁	T ₂	T ₃	T ₁	T ₂	T ₃	T ₁	T ₂	T ₃
Recuento de <i>Salmonella spp.</i>	1	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	2	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	3	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	4	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	5	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Fuente: Elaboración Propia – Arequipa (2020).

Nota: El método aplicado para los resultados mostrados en el **Cuadro N°09** fue el Método de Siembra y Recuento en superficie.

✓ **Levenda:**

- Concentración de Extracto Bioactivo: CEB
CEB₁=0.5% de Extracto bioactivo
CEB₂=0.3% de Extracto bioactivo
CEB₃=0.25% de Extracto bioactivo
- Tiempo de Exposición a T°amb del agua
T₁=1 día
T₂=5 días
T₃=10 días

✓ **Interpretación de los resultados**

Los resultados expuestos en la Cuadro N°09 representan la ausencia de *Salmonella spp.* en las muestras de agua del fundo privado almacenadas a temperatura ambiente y evaluadas en los tres tiempos, el efecto conservante se evidencia en los tres días, teniendo como resultado ausencia para el primer día, quinto día, y décimo día.

Si analizamos lo expuesto en el Tabla N°09, donde se realizó el análisis microbiológico del agua del fundo privado en los tres días sin extracto bioactivo, se precisa que el agua del fundo privado cuenta con cepas de *Salmonella spp.* desarrollándose en fase logarítmica desde 1×10^2 a 1×10^7 . los valores al igual que las cepas de *Escherichia coli* no cumplen con los estándares nacionales de calidad ambiental para el agua expuesto en el D.S N°002-2008-MINAM, D.S N°015-2015-MINAM y D.S N°004-2017-MINAM para aguas de categoría 1 y categoría 3, lo que induce a una intervención donde la alternativa podría recaer en el extracto bioactivo del alga *Ulva spp.*

Las cepas de *Salmonella spp.* se encuentran a gran escala en las aguas con amplio contenido de oxígeno, lo que induce a agua contaminada por heces fecales⁷⁶, continuar con el panorama existente seguirá provocando infecciones y alteraciones a la salud de los trabajadores del fundo privado así como baja producción por relación directa de degradación vegetativa a través de la presencia de Tyson⁵⁹.

Finalmente se demuestra el efecto conservante de las tres concentraciones de extracto bioactivo de alga *Ulva spp.* ante cepa de *Salmonella spp.*, sustentado por la acción del fitol quien induce el estrés oxidativo en la bacteria aerobia mesófila Gram negativa.

1.4.1.3. Olor

Cuadro N°10: Resultado del efecto conservante aplicado en agua del fundo privado - Olor

Evaluación	Rep.	Efecto Conservante del Alga (<i>Ulva spp.</i>) aplicado en Agua del fundo privado								
		CEB ₁			CEB ₂			CEB ₃		
		T ₁	T ₂	T ₃	T ₁	T ₂	T ₃	T ₁	T ₂	T ₃
Olor	1	4	5	2	4	5	5	5	4	5
	2	4	4	3	4	5	5	5	5	4
	3	5	4	3	4	4	4	5	4	4
	4	4	3	3	5	4	5	5	5	4
	5	5	4	2	5	4	5	5	4	5
	6	4	4	3	4	4	5	5	4	4

	7	3	4	3	4	4	3	4	5	4
	8	4	4	2	5	4	4	5	4	4
	9	4	4	2	5	5	5	4	4	5
	10	4	4	3	4	5	4	4	4	4
	\bar{x}	4.1	4	2.6	4.4	4.4	4.5	4.7	4.3	4.3

Fuente: Elaboración Propia – Arequipa (2020).

Nota: Los resultados derivaron del análisis exhaustivo de Panelistas semi - entrenados (**Ver ANEXO N°1**)

Cartilla N°01: Características para evaluar el olor – Efecto conservante

CRITERIO	PUNTUACIÓN
Muy agradable	5
Agradable	4
Aceptable	3
Regular	2
Desagradable	1

Fuente: Elaboración Propia, Arequipa (2020).

✓ **Leyenda:**

- Concentración de Extracto Bioactivo: CEB

CEB₁=0.5% de Extracto bioactivo

CEB₂=0.3% de Extracto bioactivo

CEB₃=0.25% de Extracto bioactivo

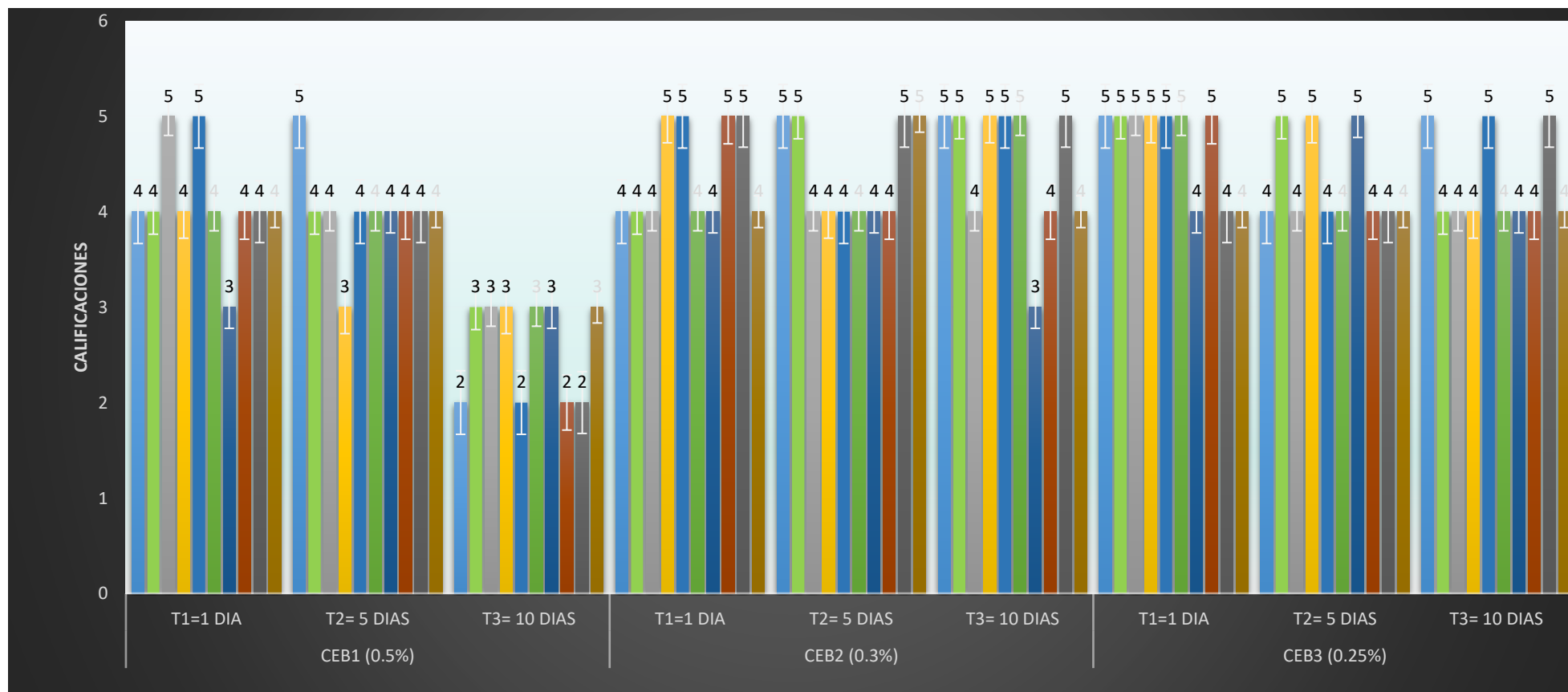
- Tiempo de Exposición a T°amb del agua

T₁=1 día

T₂=5 días

T₃=10 días

Gráfica N°02: Resultados de análisis organoléptico - Olor



Fuente: Elaboración Propia, Arequipa (2020).

Nota: Los Resultados representados en la Gráfica se evidencian a partir de las calificaciones ejecutadas por los panelistas (Ver ANEXO N°8).

✓ ANVA

Tabla N°10: Análisis de varianza para evaluar el efecto conservante - Olor

ANVA	GL	SC	CM	Fc	Ft (1%)
Concentraciones	2	15.0222	7.5111	26.7429	4.912
Tiempos	2	5.7556	2.8778	10.2462	4.912
CEB x T	4	9.4444	2.3611	8.4066	3.592
Bloques	9	2.6778	0.2975	1.0593	2.664
Error Exp.	72	20.2222	0.2809		
TOTAL	89	53.1222			

Fuente: Elaboración Propia – Arequipa (2020).

✓ Análisis de factores

Tabla N°11: Análisis de factores CEB x T

FV	GL	SC	CM	FC	Ft(1%)
Sc T CEB₁	2	835.0000	417.5000	1486.4835	4.912
Sc T CEB₂	2	1085.5556	542.7778	1932.5275	4.912
Sc T CEB₃	2	1147.2222	573.6111	2042.3077	4.912
Sc T₁ CEB	2	6.0000	3.0000	10.6813	4.912
Sc T₂ CEB	2	2.8889	1.4444	5.1429	4.912
Sc T₃ CEB	2	72.6667	36.3333	129.3626	4.912
Error Exp.	72	20.2222	0.2809		

Fuente: Elaboración Propia – Arequipa (2020).

✓ Tuckey

Tabla N°12: Tuckey para concentración

III-I	4.4333	-	3.5667	=	0.86667	>	0.4126
III-II	4.4333	-	4.4333	=	0.00000	<	0.4126
II-I	4.4333	-	3.5667	=	0.86667	>	0.4126

Fuente: Elaboración Propia – Arequipa (2020).

III	II	I
CEB2	CEB3	CEB1

Tabla N°13: Tuckey para tiempo

III-I	4.4000	-	3.8000	=	0.60000	>	0.4126
III-II	4.4000	-	4.2333	=	0.16667	<	0.4126
II-I	4.2333	-	3.8000	=	0.43333	>	0.4126

Fuente: Elaboración Propia – Arequipa (2020).

III	II	I
T1	T2	T3

✓ **Interpretación de los resultados**

El Análisis de Varianza (ANVA) observado en la Tabla N°08 para el Efecto Conservante del Alga *Ulva spp.* aplicado en agua del fundo privado, demostró que existe diferencia altamente significativa entre los resultados de las concentraciones (0.5%, 0.3% y 0.25%) y los tiempos de almacenamiento (1 día, 5 día y 10 día).

El análisis de factores CEB x T demostró que, al primer día de almacenamiento del agua con el extracto bioactivo a temperatura ambiente, tuvo aceptación por parte de los panelistas en las tres concentraciones. Evidencia que se observa con claridad en la Gráfica N°02, en el caso de la concentración de 0.5% de extracto bioactivo se precisa que las calificaciones bajan al día 5 y al día 10, identificando aroma aceptable y regular respectivamente, ello se justifica por la presencia de las aminas y ácido sulfhídrico quienes desarrollan diferentes procesos de desodorización provocando un aroma rápidamente percibido por los panelistas⁷⁷.

Si analizamos la concentración CEB₂ (0.3%) y la concentración CEB₃ (0.25%) observaremos que el aroma se mantiene en los tres días siendo calificadas con puntuaciones de muy agradable y agradable por los panelistas.

Al desarrollar Tuckey para los tiempos se encuentra que los tiempos T₁ y T₂ (1 y 5 día) no presentan diferencias altamente significativas, en este apartado es importante justificar que el resultado de Tuckey para tiempos es percibido con claridad en el día 10 en la concentración CEB₁ donde las calificaciones decaen.

El análisis de Tuckey para concentraciones demostró que los tratamientos CEB₂ y CEB₃ no presentan diferencias altamente significativas, lo que corrobora lo argumentado en el análisis de factores donde se evidenció que la concentración CEB₁ presento diferencias altamente significativas en sus tiempos de almacenamiento.

Finalmente, el Análisis de Varianza (ANVA), el análisis de factores y el Análisis de Tuckey demostraron que las concentraciones CEB₂ y CEB₃ no presentan diferencias altamente significativas y son reconocidas por los panelistas como las concentraciones con aroma muy agradable para conservar el agua del fundo privado hasta en 10 días.

1.4.1.4. Color

Cuadro N°11: Resultado del efecto conservante aplicado en agua del fundo privado -
Color

Evaluación	Rep.	Efecto Conservante del Alga (<i>Ulva spp.</i>) aplicado en Agua del fundo privado								
		CEB ₁			CEB ₂			CEB ₃		
		T ₁	T ₂	T ₃	T ₁	T ₂	T ₃	T ₁	T ₂	T ₃
Color	1	4	3	2	5	4	5	4	4	4
	2	2	3	3	4	5	5	5	5	4
	3	3	2	3	4	4	4	5	4	4
	4	2	3	3	5	4	5	5	5	4
	5	2	2	2	5	4	5	5	4	4
	6	3	3	3	5	4	5	5	4	4
	7	2	2	3	5	4	3	4	4	4
	8	3	2	2	5	4	4	5	4	4
	9	3	2	2	5	5	5	4	4	5
	10	3	4	3	4	5	4	4	4	4
	\bar{x}	2.7	2.6	2.6	4.7	4.3	4.5	4.6	4.2	2.7

Fuente: Elaboración Propia – Arequipa (2020).

Cartilla N°02: Características para evaluar el color – Efecto conservante

CRITERIO	PUNTUACIÓN
Muy bueno	5
Bueno	4
Aceptable	3
Regular	2
Malo	1

Fuente: Elaboración Propia, Arequipa (2020).

✓ **Leyenda:**

- Concentración de Extracto Bioactivo: CEB

CEB₁=0.5% de Extracto bioactivo

CEB₂=0.3% de Extracto bioactivo

CEB₃=0.25% de Extracto bioactivo

- Tiempo de Exposición a T° amb del agua

T₁=1 día

T₂=5 días

T₃=10 días

✓ ANVA

Tabla N°14: Análisis de varianza para evaluar el efecto conservante - Color

ANVA	GL	SC	CM	Fc	Ft (1%)
Concentraciones	2	63.0222	31.5111	105.0370	4.912
Tiempos	2	1.6222	0.8111	2.7037	4.912
CEB x T	4	0.6444	0.1611	0.5370	3.592
Bloques	9	2.9000	0.3222	1.0741	2.664
Error Exp.	72	21.6000	0.3000		
TOTAL	89	89.7889			

Fuente: Elaboración Propia, Ficha de Datos– Arequipa (2020).

✓ Tuckey

Tabla N°15: Tuckey para concentraciones

III-I	4.5000	-	2.6333	=	1.86667	>	0.4264
III-II	4.5000	-	4.3000	=	0.20000	<	0.4264
II-I	4.3000	-	2.6333	=	1.66667	>	0.4264

Fuente: Elaboración Propia, Ficha de Datos– Arequipa (2020).

III	II	I
CEB ₂	CEB ₃	CEB ₁

✓ Interpretación de los resultados

El Análisis de Varianza (ANVA) citado en la Tabla N°14 demuestra claramente que existe diferencia altamente significativa en cada una de las concentraciones, por otro lado, argumenta que no existe diferencia altamente significativa entre los tiempos ni entre los factores, por lo que se procedió a realizar Tuckey para concentraciones (CEB).

El análisis de Tuckey para concentraciones con un valor de $F_t=1\%$ evidenció que no existe diferencia altamente significativa entre las interacciones de las concentraciones CEB_2 y CEB_3 , sin embargo, si se encuentra diferencia altamente significativa entre las dos mencionadas concentraciones con CEB_1 .

La Gráfica N°03 representa claramente lo expuesto por el análisis de Tuckey donde se observa que las calificaciones para el efecto conservante del color en los tres días son totalmente bajas a diferencia de las concentraciones CEB_2 y CEB_3 (0.3 y 0.25%).

Los panelistas detectaron coloración anormal en el primer día, quinto día y décimo día de tratamiento del agua del fundo privado con extracto bioactivo a una concentración de 0.5%, teniendo calificaciones de regular en la mayoría de casos se justifica lo sucedido por la presencia de clorofila b a una concentración que es detectable por los panelistas.

El pigmento se acentúa a una temperatura mayor a 20°C a medida que pasa el tiempo, a una concentración de 0.5% el nivel de absorbancia es de 2.493 a 650nm lo que representa que entra en la zona potencial del equilibrio químico⁷⁸ y con ello su fácil percepción del color en 10 días.

Las concentraciones de 0.3% (CEB_2) y 0.25% (CEB_2) tuvieron calificaciones de bueno y muy bueno hasta el décimo día lo que justifica el efecto conservante, del color, en cualquiera de las dos concentraciones de extracto bioactivo de alga *Ulva spp.* aplicado en agua de fundo privado.

1.4.1.5. Viscosidad

Cuadro N°12: Resultado del efecto conservante aplicado en agua del fundo privado - Viscosidad

Evaluación	Rep.	Efecto Conservante del Alga (<i>Ulva spp.</i>) aplicado en Agua del fundo privado								
		CEB ₁			CEB ₂			CEB ₃		
		T ₁	T ₂	T ₃	T ₁	T ₂	T ₃	T ₁	T ₂	T ₃
Viscosidad	1	5	2	3	5	4	2	4	5	4
	2	4	2	3	4	4	2	5	5	5
	3	5	3	2	5	4	2	5	4	4
	4	4	2	2	5	4	2	5	5	4
	5	4	2	2	3	3	2	5	5	5
	6	4	3	2	4	4	2	5	4	4
	7	4	2	3	5	4	3	4	4	4
	8	4	3	2	5	4	2	4	4	4

	9	4	2	2	4	4	2	4	4	5
	10	5	2	2	3	4	2	4	4	5
	\bar{x}	4.3	2.3	2.3	4.3	3.9	2.1	4.5	4.4	4.4

Fuente: Elaboración Propia – Arequipa (2020).

Nota: Los resultados derivaron del análisis exhaustivo de Panelistas semi - entrenados (**Ver ANEXO N°1**).

Cartilla N°03: Características para evaluar la viscosidad – Efecto conservante

CRITERIO	PUNTUACIÓN
Muy buena	5
Bueno	4
Aceptable	3
Regular	2
Malo	1

Fuente: Elaboración Propia, Arequipa (2020).

✓ **Leyenda:**

- Concentración de Extracto Bioactivo: CEB

CEB₁=0.5% de Extracto bioactivo

CEB₂=0.3% de Extracto bioactivo

CEB₃=0.25% de Extracto bioactivo

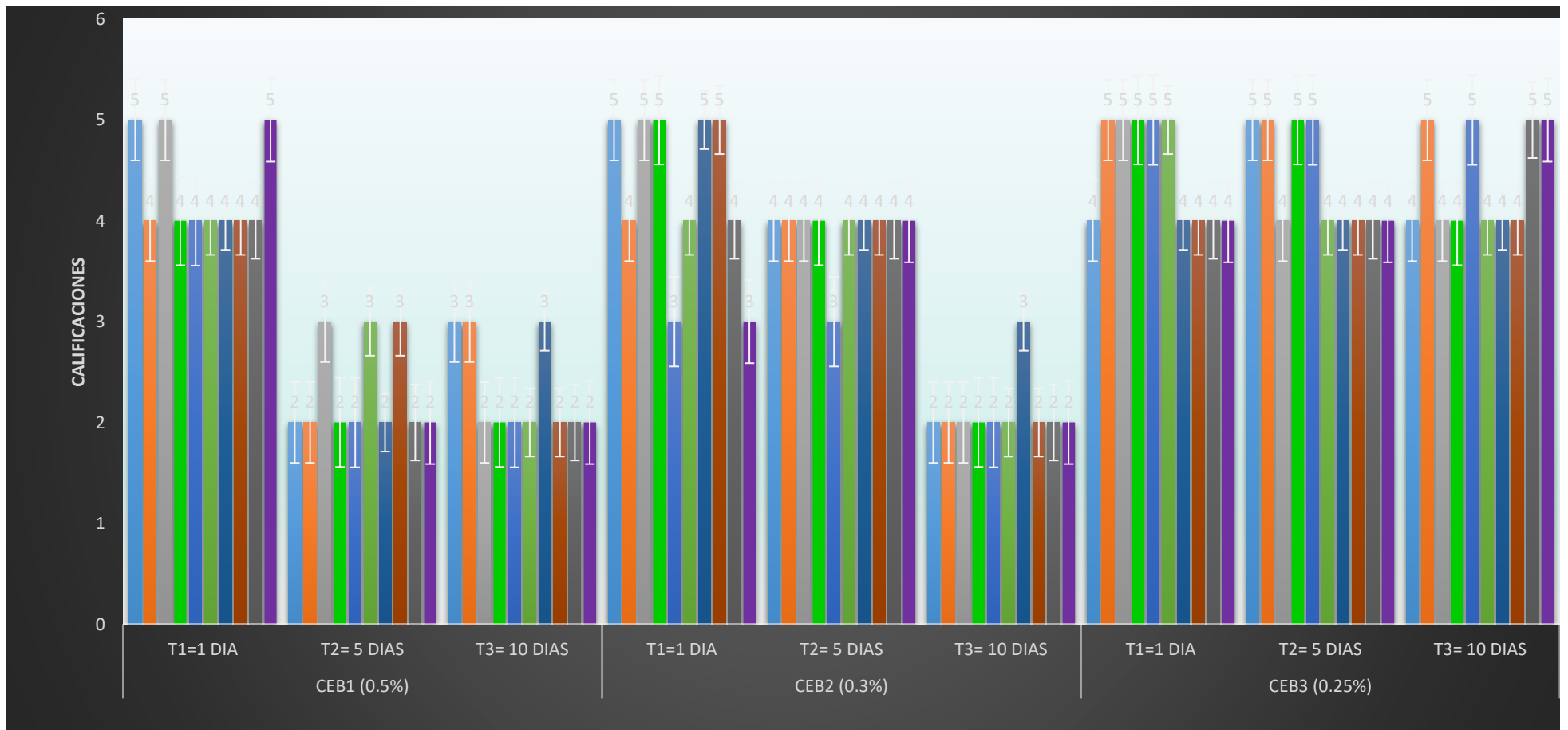
- Tiempo de Exposición a T°amb del agua

T₁=1 día

T₂=5 días

T₃=10 días

Gráfica N°04: Resultados del análisis organoléptico – Viscosidad



Fuente: Elaboración Propia, Ficha de Datos– Arequipa (2020).

Nota: Los Resultados representados en la Gráfica se evidencian a partir de las calificaciones ejecutadas por los panelistas (**Ver ANEXO N°8**).

✓ ANVA

Tabla N°16: Análisis de varianza para evaluar el efecto conservante – Viscosidad

ANVA	GL	SC	CM	Fc	Ft (1%)
Concentraciones	2	33.6889	16.8444	60.9788	4.912
Tiempos	2	31.0889	15.5444	56.2726	4.912
CEB x T	4	23.1111	5.7778	20.9162	3.592
Bloques	9	1.6111	0.1790	0.6480	2.664
Error exp.	72	19.8889	0.2762		
TOTAL	89	109.3889			

Fuente: Elaboración Propia, Arequipa (2020).

✓ Análisis de factores

Tabla N°17: Análisis de factores CEB x T

FV	GL	SC	CM	FC	Ft(1%)
ScT CEB ₁	2	733.8889	366.9444	1328.3799	4.912
ScT CEB ₂	2	870.3333	435.1667	1575.3520	4.912
ScT CEB ₃	2	675.0000	337.5000	1221.7877	4.912
Sc T ₁ CEB	2	0.8889	0.4444	1.6089	4.912
Sc T ₂ CEB	2	80.2222	40.1111	145.2067	4.912
Sc T ₃ CEB	2	108.2222	54.1111	195.8883	4.912
Error Exper	72	19.8889	0.2762		

Fuente: Elaboración Propia, Arequipa (2020).

✓ Tuckey

Tabla N°18: Tuckey para concentración

III-I	4.4333	-	2.9667	=	1.46667	>	0.4092
III-II	4.4333	-	3.4333	=	1.00000	>	0.4092
II-I	3.4333	-	2.9667	=	0.46667	>	0.4092

Fuente: Elaboración Propia, Arequipa (2020).

III	II	I
CEB ₃	CEB ₂	CEB ₁

✓ Tuckey

Tabla N°19: Tuckey para tiempos

III-I	4.3667	-	2.9333	=	1.43333	>	0.4092
III-II	4.3667	-	3.5333	=	0.83333	>	0.4092
II-I	3.5333	-	2.9333	=	0.60000	>	0.4092

Fuente: Elaboración Propia, Arequipa (2020).

III	II	I
T ₁	T ₂	T ₃

✓ **Interpretación de los resultados**

El Análisis de Varianza (ANVA) desarrollado para conocer la conservación de la viscosidad del agua del fundo privado al ser tratado con extracto bioactivo de Alga *Ulva spp.* demostró que existe diferencia altamente significativa para las concentraciones, para los tiempos y para los factores, por lo que se procedió a realizar análisis de factores, Análisis de Tuckey para los dos tratamientos (concentración y tiempo).

El análisis de Factores (CEB x T) evidenció que no hay diferencia altamente significativa entre el primer día de almacenamiento y las tres concentraciones obteniendo en los tres casos calificaciones de muy bueno y bueno por parte de los panelistas.

El análisis de Tuckey para tiempos demostró que los tres tiempos presentan diferencias altamente significativas contando con una amplitud lograda de 0.4092, lo demostrado por el análisis de Tuckey se justifica con la Gráfica N°04, donde se puede observar que el tratamiento con 0.5% de extracto bioactivo de alga *Ulva spp.*, el quinto y décimo día presentan valores bajos, lo mismo sucede con el tratamiento a una concentración de 0.3% de extracto bioactivo de alga *Ulva spp.* en el décimo día, se puede justificar lo sucedido a partir de la existencia de hidrocoloide, polímero que se encuentra en el alga *Ulva spp.* a una concentración de 0.029%⁷⁹. los panelistas lograron precisar que al tratar el extracto bioactivo a 0.5% y 0.3% la viscosidad varia calificando como regular, lo interesante se observa al trabajar con la concentración CEB₃ (0.25%) donde se observó una alta calificación por parte de los panelistas en los tres días, por lo que el contenido de los polímeros del alga no afectó la característica organoléptica del agua del fundo privado, siendo aceptadas por los panelistas con calificaciones de Muy buena y Buena.

El análisis de Tuckey para concentración justifican lo argumentado anteriormente donde la concentración CEB₂ y CEB₁ (0.3% y 0.5% de extracto bioactivo de alga *Ulva spp.*) no presentan diferencias altamente significativas, ello concluye que los panelistas reconocen que la concentración CEB₃ termina teniendo la mejor característica organoléptica para la conservación de la viscosidad del agua del fundo privado.

2. Discusión

La Tabla N°05 a través del análisis microbiológico desarrollado en las muestras de agua del fundo privado demostró la existencia de cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* en rango de 1×10^3 ufc/g y 2×10^1 ufc/g respectivamente, rebasando los estándares nacionales de calidad ambiental para agua descritos en la categoría 3 y categoría 1 del DS.N°002-2008-MINAM, DS.N°015-2015-MINAM y DS.N°004-2017-MINAM, por lo que sus características iniciales no reúnen las condiciones para ser destinadas al consumo humano sin desinfección (punto A1, de la subcategoría A – Categoría 1 del DS.N°004-2017-MINAM), ni reúne las características suscritas en la categoría 3 para riego de vegetales (Punto Subcategoría D1: Vegetales de porte herbáceo, página 3 del DS.N°004-2017-MINAM).

El Cuadro N°06 evidencia características organolépticas de Color, Olor y Viscosidad de muestras de agua del fundo privado sin tiempo de almacenamiento ni tratamiento con el extracto bactericida, evidenciando que las características son propias de agua contaminada^{74,75,80} comparadas con los parámetros organolépticos suscritos por DIGESA para agua de categoría 1 y 3. Se evidencia turbidez y destellos marrones hallados en la coloración del agua lo que fundamenta la reacción de la bacteria Gram negativa para la generación de energía química a través de la obtención de ATP, FADH₂ y NADH⁷¹ las dos moléculas últimas con características esenciales en la supervivencia de la célula bacteriana ante ello Marco L. y Azario R⁷. demostraron en su artículo que la turbidez del agua es un indicador básico de la calidad de las aguas con alta relevancia en su sanidad, pudiendo ser indicio de contaminación ya que refleja sustancias coloidales y orgánicas, a través del **Cuadro N°06** y **la Tabla N°05** se logra precisar la alta relación de la turbidez a partir de los destellos marrones con la presencia de bacterias Gram negativas como *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* en el agua del fundo privado de la provincia de Camaná.

El Cuadro N°07 y **la Gráfica N°01** demostraron que las cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* presentan un grado de sensibilidad elevado al ser tratadas con las concentraciones de 1%, 0.5% y 0.25% de extracto bioactivo de alga *Ulva spp.* Los resultados concuerdan con lo sustentado por Quijano Sheggia⁸¹ en su artículo relacionado a la actividad antibiótica de extractos de *Actinoptychus octonarius* alga extraída de la laguna de Colima, Quijano aplicó el método de Kirby Bauer obteniendo sensibilidad en *Staphylococcus aureus* con un tamaño de halo de 9mm y tamaño de halo de inhibición de 19mm para *Vibrio vulnificus* ambos extractos sometidos a propanol. Los resultados obtenidos en el **Cuadro**

N°07 representan la alta sensibilidad que las bacterias Gram negativas *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* mantienen argumentado por el efecto del fitol diterpeno hallado en la clorofila b, tal y como lo sostiene Jaramillo⁸² en su investigación donde expone que los compuestos fenólicos presentan actividades antisépticas, bactericidas y fungicidas cuya acción es atribuida a que los fenoles degradan las proteínas de la membrana celular de las bacterias, provocando la citotoxicidad. Jaramillo cita al fitol como un terpenoide que forma parte primordial en los extractos de las algas derivado de un medio alcohólico, y atribuye el efecto antiséptico, bactericida y fungicida al alcohol diterpenico acíclico, el fitol. Lex Engel⁸³ por otro lado concluye que las algas son especies maravillosas con una cantidad de clorofila b por excelencia que las caracteriza del reino plantae, expone como la clorofila b se respalda en la membrana del tilacoide la misma que a su vez se encuentra en el estoma del cloroplasto del alga, Lex Engel realizó estudios donde hallo que el fitol es el diterpeno que valoriza al alga por su acción para agotar el NADH provocando el estrés oxidativo. Se reconoce que los tamaños de halo, resultado de la exposición de *Salmonella spp.* ante el bioactivo, son menores en 1.12mm a diferencia de *Escherichia coli*, se fundamenta lo citado por la capacidad Anti-fagocítica⁷³ de la bacteria *Salmonella spp.*, el tamaño de su capa externa celular y mayor contenido del NADH⁷¹ argumentado por Magallanes en su investigación a extractos etanoicos, sin embargo, los resultados no evaden la condición de sensible para ambas bacterias.

En las Tablas N°06, N°07 y N°08 al comparar las tres concentraciones validadas por el Análisis de Varianza, análisis de factores y Tuckey se reconoce que las tres concentraciones no presentan diferencias altamente significativas para el efecto bactericida, dicho resultado se fundamenta por la capacidad de la clorofila b a través del fitol para producir estrés oxidativo a través del aumento del oxígeno reactivo⁸⁴ (ROS) y la disminución de NADH bacteriano (antioxidante) argumento que es sustentado por Nurby R. durante su investigación para la actividad antibacteriana en algas marinas. Finalmente, los resultados de sensibilidad expuestos en el **Cuadro N°07** demuestran la sensibilidad de las bacterias (*Escherichia coli* y *Salmonella spp.*) ante el alga *Ulva spp.*, analizando las tres concentraciones se considera trabajar con la concentración de 0.5% y 0.25% en la evaluación de conservación.

En los Cuadros N°08 y N°09 se precisa los resultados de recuento de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* para muestras de agua tratada con extracto bioactivo donde se demostró que durante los 10 días se mantiene la ausencia de las dos cepas bacterianas (*Escherichia coli* y

Salmonella spp.) evidenciando que las concentraciones de 0.5%, 0.3% y 0.25% cumplen con el efecto bactericida y conservan el agua del fondo privado.

Los Cuadros N°10, N°11 y N°12 demuestran la conservación de las características organolépticas del agua del fondo privado encontrando que la concentración de 0.25% de extracto bioactivo mantiene las características de Olor, Color y Viscosidad en un rango óptimo para la calidad del agua en un tiempo de 10 días, logrando alcanzar resultados de Muy agradable y Bueno descrito por los panelistas y permitiendo satisfacer los parámetros organolépticos suscritos por DIGESA para agua de categoría 1 y 3.

El Cuadro N°10 demuestra a través del análisis de Olor, para la conservación, que las concentraciones CEB₂ y CEB₃ no presentan diferencias altamente significativas contando con calificaciones elevadas por parte de los panelistas, la concentración CEB₁ en el tiempo de 10 días tuvo calificaciones mínimas por la presencia de aminas y ácido sulfhídrico quienes desarrollaron diferentes procesos de desodorización en la muestra provocando que los panelistas encuentren diferencia con los parámetros organolépticos suscritos por DIGESA para agua de categoría 1 y 3.

El Cuadro N°11 evidencia a través del análisis de Color, para la conservación, que la concentración CEB₁ no presenta calificaciones optimas en los tres tiempos (1 día, 5 día, 10 día) de almacenamiento, para las muestras de agua tratadas con extracto bioactivo de alga *Ulva spp.* lo observado se justifica por la presencia de clorofila b a una concentración que es detectable por los panelistas (0.5%). Zaehring Davis⁸⁵ argumentó en el 2018 que el pigmento se acentúa a una temperatura mayor a 20°C a medida que pasa el tiempo, la información se corroboró con los resultados expuestos en el **Cuadro N°11** a una concentración de 0.5% de extracto bioactivo donde a medida que transcurre el tiempo de almacenamiento la coloración se intensificó.

El Cuadro N°12 demuestra a través del análisis de Viscosidad, que las concentraciones CEB₁ y CEB₂ no mantuvieron las características de Viscosidad optima en los tres tiempos de evaluación justificado por la presencia del hidrocoloide (polímero del alga *Ulva spp.*) a las concentraciones de 0.5% y 0.3%, a partir del análisis de Viscosidad se determina que la concentración CEB₃ (0.25% de extracto bioactivo del alga *Ulva spp.*) permite mantener las características Organolépticas de Olor, Color y Viscosidad en un nivel óptimo con calificaciones por parte de los panelistas de Muy agradable y Agradable, desencadenando el Efecto conservante del alga *Ulva spp.* a dicha concentración.

CONCLUSIONES

- Primera.** Se determinó el estado microbiológico del agua utilizada en el fundo privado de la provincia de Camaná, evidenciando la existencia de cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* en rango de 1×10^3 ufc/g y 2×10^1 ufc/g respectivamente, rebasando los estándares nacionales de calidad ambiental para agua descritos para la Categoría 3 y Categoría 1 como fuentes de agua para riego de vegetales y destinadas al consumo humano.
- Segunda.** Se determinó el efecto bactericida del Alga *Ulva spp.* sobre cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* encontrando que las tres concentraciones (1%, 0.5% y 0.25% de extracto bioactivo de Alga *Ulva spp.*) alcanzan la sensibilidad de las bacterias con tamaños de halo promedio de 16.44mm y 15.32mm para *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* respectivamente.
- Tercera.** Se determinó el efecto conservante del Alga *Ulva spp.* aplicado en agua utilizada en el fundo privado de la provincia de Camaná evidenciando resultados de ausencia de recuento de cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* hasta en un tiempo de 10 días para las tres concentraciones (0.5%, 0.3% y 0.25% de extracto bioactivo de alga *Ulva spp.*), por su parte se determina la concentración óptima para el efecto conservante de las características organolépticas del agua del fundo privado, siendo la concentración de 0.25% de extracto bioactivo del Alga *Ulva spp.*, quien logró las máximas calificaciones de los panelistas para la característica de Olor, Color y Viscosidad óptima del agua del fundo privado.
- Cuarta.** Se determinó que la concentración de 0.25% de extracto bioactivo de alga *Ulva spp.* cuenta con sensibilidad bactericida y el mejor efecto conservante frente a cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* aceptando la eficacia del efecto bactericida y conservante del Alga *Ulva spp.* frente a cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* manteniendo las características microbiológicas y organolépticas en un estándar óptimo, con ello se logra disminuir la tasa de infecciones y patologías derivados por los dos microorganismos Gram negativos (*Escherichia coli* y *Salmonella spp.*), consiguiendo ser una alternativa ambiental viable para el fundo privado de la provincia de Camaná y generando valor agregado a nuestros recursos vegetales marinos.

RECOMENDACIONES

- Primera.** Es importante considerar la señalización de la zona al momento del monitoreo de muestra en un dren o fosas subterráneas, ello permitirá que la toma de muestra se ejecute sin intervenciones secundarias que podrían causar riesgos a los trabajadores y al investigador.
- Segunda.** Se recomienda un análisis previo de la materia prima, el alga *Ulva spp.*, considerar la estructura morfológica libre de deterioro, el análisis organoléptico del talo permitirá garantizar el estado correcto del alga, es importante observar la zona de adhesión del alga con coloración verdosa lo que permitirá tener la seguridad de su estado de reproducción, las superficies de las hojas uniformes y la coloración verdosa clara demuestran la vitalidad del talo, por otro lado el tamaño del talo alrededor de 30cm manifiesta un estado de maduración adecuado. Es sumamente necesario que el alga se encuentre en una maduración óptima para prevenir su depredación y su extracción en un estadio equívoco.
- Tercera.** El transporte y almacenamiento del alga antes de la extracción del bioactivo es un paso sensible por ello se recomienda controlar la temperatura del medio de almacenamiento del alga a cada hora, manteniéndola a temperatura de refrigeración (4°C), el cooler o fridge donde se transporta el alga deberá de hallarse sin abolladuras y con un cierre compacto que garantice la conservación del frío interior.
- Cuarta.** Para la extracción del bioactivo fue necesario de un rotavapor, seguidamente se obtuvo el solvente de arrastre de la clorofila b, se recomienda reutilizar el solvente residual para nuevos procesos de destilación de esta manera aumentamos la eficiencia del extracto y prevenimos daños al medio ambiente, lo que aumenta la sostenibilidad de las investigaciones futuras.
- Quinta.** Se recomienda continuar con la línea de estudio para ampliar el efecto bactericida y propalar los efectos a campos de organismos patógenos como hongos y virus, considerando que las algas son recursos naturales con elevados principios activos como diterpenos y fenoles lo que motiva a seguir investigándola en función de generar prevención a la salud desde la intervención de recursos naturales marinos.

- Sexta.** Durante la percolación del alga *Ulva spp*, se obtuvo materia residual en gran escala, ante ello se recomienda investigar, a través de análisis fisicoquímico, nutricional y organoléptico, su aporte a la industria alimentaria, farmacéutica, al medio ambiente y a la salud otorgándole un valor agregado a la extracción de algas peruanas y su transformación en productos de comercialización.
- Séptima.** Se recomienda incrementar las investigaciones acerca de los bioactivos que pueden hallarse en las diversas clases de algas del litoral peruano como alternativas de solución ante la existencia de patologías y su contribución a un país más sostenible.
- Octava.** Se recomienda generar proyectos de intervención tecnológicos a partir de productos naturales marinos con orientación a la resolución de problemas existentes en departamentos costeros mejorando la calidad de vida de los trabajadores a partir de sus propios recursos.
- Novena.** Se recomienda un exhaustivo control de las aguas de los fundos, considerando análisis microbiológicos como prioridad y la concordancia con las normas sanitarias existentes en nuestro país, ello basado en que los trabajadores frecuentan el contacto con los drenes en tiempos de siembra, post-siembra y cosecha.
- Decima.** Se recomienda dotar de conocimiento a través de capacitaciones a los trabajadores en los fundos sobre buenas prácticas de los recursos hídricos con ello se previene infecciones a partir del propio trabajador y fomentar la preservación del medio ambiente.
- Onceava.** Se recomienda el uso del bactericida como medio preventivo del Tyzon y Pyricularia, por lo que se sugiere el uso del extracto bioactivo al momento del riego en la maduración del arroz.
- Doceava.** Las algas son recursos vegetales marinos mínimamente estudiados en el Perú, por lo que se recomienda un mayor enfoque en su fuente de bioactivos, moléculas desarrolladas por las propias algas como medio de supervivencia ante cambios climáticos a lo largo de los años con efectos inimaginables quienes podrían ser una fuente de generación de soluciones en la salud y el medio ambiente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Troncoso N, Saavedra R, Olivares A, Farías J, San-Martín S, Urrutia H *et al.* Identificación de compuestos antibacterianos en macroalgas presentes en la Región del Biobío, Chile. *Rev Biol Mar Oceanogr* 2015; 50: 199–204.
- 2 Giles M, Ortegón A, Palao M. Análisis Microbiológico de Agua y hielo para consumo humano. (Determinación de bacterias coliformes, coliformes fecales y *Escherichia coli* por la técnica de Número más Probable (NMP). ; : 16.
- 3 Maestrin APJ, Neri CR, Oliveira KT de, Serra OA, Iamamoto Y. Extração e purificação de clorofila a, da alga *Spirulina maxima*: um experimento para os cursos de química. *Quím Nova* 2009; 32: 1670–1672.
- 4 Moreno SG, Vela HP, Alvarez MOS. La fluorescencia de la clorofila a como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. *Rev Educ Bioquímica* 2008; 27: 119–129.
- 5 Fernández-K P de la V, Maribel Y. Determinación de la Calidad de Agua de la Represa Aguada Blanca con la Sonda Hydrolab DS5 en la Zona Lacustre del Embalse Durante los Periodos Húmedos y de Estiaje. *Univ Católica St María* 2019; 1: 40–55.
- 6 Apella MC. 2 Microbiología de agua. Conceptos básicos. 2017; 1: 18.
- 7 Marcó L, Azario R, Metzler C. La turbidez como indicador básico de calidad de aguas potabilizadas a partir de fuentes superficiales. Propuestas a propósito del estudio del sistema de potabilización y distribución en la ciudad de Concepción del Uruguay (Entre Ríos, Argentina). 2004; : 11.
- 8 Clara M, R M. Análisis de la calidad del agua para consumo humano y percepción local de las tecnologías apropiadas para su desinfección a escala domiciliaria, en la microcuenca El Limón, San Jerónimo, Honduras. 2005; 1: 10–46.
- 9 Garces S. GLOSARIO DE TÉRMINOS PARA LA GESTIÓN AMBIENTAL PERUANA. ; 1: 238.
- 10 NTP-ISO 5492. 2008. 2008.<https://es.scribd.com/document/234407935/NTP-ISO-5492-2008-Analisis-Sensorial-Vocabulario>.
- 11 OMS | ¿Cuál es la enfermedad que causa más muertes en el mundo? WHO. 2015.<https://www.who.int/features/qa/18/es/>.
- 12 Fuentes-Díaz Z, Rodríguez-Salazar O, Salazar-Diez M, Rodríguez-Hernández O. Factores de riesgo de las enfermedades diarreicas agudas en menores de cinco años. *Rev Arch Méd Camagüey* 2008; 12: 10–20.
- 13 OPS. OPS/OMS Perú - OPS/OMS Perú. https://www.paho.org/per/index.php?option=com_content&view=article&id=943:marco-mejoramiento-calidad-agua-consumo-humano&Itemid=0.

- 14 An epidemic of hepatitis A attributable to the ingestion of raw clams in Shanghai, China. - PubMed - NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1658157>.
- 15 Tizón Tardío | Seminis. <https://seminis-las.com/recursos/guias-de-enfermedades/tomates/late-blight/>.
- 16 Francisco Francisco N, Gallegos Morales G, Ochoa Fuentes YM, Hernández Castillo FD, Benavides Mendoza A, Castillo Reyes F. Aspectos Fundamentales del Tizón Común Bacteriano (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* Smith): Características, Patogenicidad y Control. *Rev Mex Fitopatol* 2013; 31: 147–160.
- 17 Paredes A, Enrique M. Determinación de Coliformes Totales y Fecales del Agua Potable, del Distrito de Chuquibamba, Provincia de Condesuyos, Arequipa, entre Abril y Junio del 2018. *Univ Católica St María* 2019; 1: 1–70.
- 18 Gutiérrez C, Alberto J. Calidad Microbiológica del Agua del Río Socabaya Mediante el Recuento de *Escherichia Coli*, Coliformes Totales y Mesófilos Aerobios Totales, en los Distritos de Socabaya y Jacobo Hunter, Arequipa, 2019. *Univ Católica St María* 2020. <https://tesis.ucsm.edu.pe:80/repositorio/handle/UCSM/9964> (accessed 13 Apr2020).
- 19 Gutiérrez C, Alberto J. Calidad Microbiológica del Agua del Río Socabaya Mediante el Recuento de *Escherichia Coli*, Coliformes Totales y Mesófilos Aerobios Totales, en los Distritos de Socabaya y Jacobo Hunter, Arequipa, 2019. *Univ Católica St María* 2020; 1: 1–45.
- 20 MINSA. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el metodo de disco difusion. 2002; 1: 30–36.
- 21 microbiología de los sistemas acuáticos. http://aulavirtual.usal.es/aulavirtual/demos/microbiologia/unidades/curso/UNI_02/u2c6s2c.htm (accessed 11 May2020).
- 22 Laboratorio Microbiología. http://campus.usal.es/~micromed/Practicas_odontologia/unidades/labv/LabMicro/Antibioograma.html.
- 23 Cercenado E, Cantón R. Procedimiento de Microbiología Clínica. 2003. <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia1a.pdf>.
- 24 DsrA confiere resistencia al estrés oxidativo en *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Scopus* <https://ezproxy.ucsm.edu.pe:2449/record/display.uri?eid=2-s2.0-85089850706&origin=resultslist&sort=plf-f&src=s&st1=NADH&st2=&sid=883362395399c3a4928c83e2579f97ae&sot=b&sdt=b&sl=19&s=TITLE-ABS-KEY%28NADH%29&relpos=0&citeCnt=0&searchTerm=> (accessed 26 Oct2020).
- 25 Larrea-Murrell JA, Rojas-Badía MM, Romeu-Álvarez B. Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. ; 44: 12.

- 26 Rodríguez-Angeles G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud Pública México* 2002; 44: 464–475.
- 27 Ibañez-Ezequiel E. Búsqueda de nuevos ingredientes funcionales naturales procedentes de algas. 2010; : 371.
- 28 Umaña FF. Estudio de la eficacia bactericida y bacteriostática de productos químicos embebidos en materiales. ; : 218.
- 29 Cavero-Tasayco MA, Angeles-Bonelli GS. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos metanólicos de las algas marinas sobre cepas de *Streptococcus mutans*. *Univ Peru Cienc Apl UPC* 2018. doi:10.19083/tesis/624450".
- 30 Charzeddine L, Fariñas M. Propiedades Bioactivas de algas marinas del Nororiente de Venezuela. ; 1: 1–6.
- 31 Maye-Bernal MG. El antibiograma de Discos. file:///C:/Users/Shougang/Downloads/1891-Texto%20del%20manuscrito%20completo%20(cuadros%20y%20figuras%20insertos)-7206-1-10-20130814.pdf.
- 32 Mayra Montero-Recalde LV. Evaluación de dos métodos para medir la sensibilidad de inhibición de crecimiento de la cepa certificada de *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*. 2018; 2: 5.
- 33 Belén SMM, Stefanía VGN, Dressendorfer LM. Metodo de Kirby Bauer, 2005. 2005; 1: 86–185.
- 34 A. Deliv K. Conservaciones. Conservantes. 2010.<http://milksci.unizar.es/adit/conser.html>.
- 35 Javid-Corpas E. Evaluación de conservantes para limitar el recuento de mohos. 2012; 1: 2–8.
- 36 Herrero-Vanrell R. Generalidades de los conservantes en las formulaciones oftálmicas: an overview. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2007; 82: 531–532.
- 37 Instituto Nacional de Salud C. Guía de Práctica Clínica para el Diagnóstico y Tratamiento de la Enfermedad Diarreica Aguda en niños menores de 5 años - Versión extensa -. 2017.<http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/4221.pdf>.
- 38 S C, J C, P.M S, A M, N F. *Flora ibérica. Algas continentales. Carófitos (Characeae)*. Editorial Visión Libros, 2014.https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0717-75182004031100003&lng=es&nrm=iso&tlng=es.
- 39 Barrera LL. Actividad Antifúngica de Polvos, Extractos y Fracciones de *Cestrum nocturnum* L. Sobre el Crecimiento Micelial de *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092008000100005 (accessed 23 Oct2020).

- 40 Castro-González MI. Chemical composition of the green alga *Ulva lactuca*. *Cienc Mar* 1996; 22: 205–213.
- 41 Lallana VH. Extracción y separación de pigmentos de los cloroplastos. ; : 1–4.
- 42 Troncoso N, Saavedra R, Olivares A, Farías J, San-Martín S, Urrutia H *et al.* Identificación de compuestos antibacterianos en macroalgas presentes en la Región del Biobío, Chile. *Rev Biol Mar Oceanogr* 2015; 50: 199–204.
- 43 Merceron M, Antoine V, Auby I, Morand P. In situ growth potential of the subtidal part of green tide forming *Ulva* spp. stocks. *Sci Total Environ* 2007; 384: 293–305.
- 44 Eutrofización y floración de macroalgas en aguas costeras templadas y tropicales: experimentos de enriquecimiento de nutrientes con *Ulva* spp. - TEICHBERG - 2010 - Biología del cambio global - Wiley Online Library. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2486.2009.02108.x> (accessed 23 Oct2020).
- 45 Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico - Directiva Techos Nacionales de Emisión. <https://energia.gob.es/desarrollo/Medioambiente/Contaminantes/TechosNacionales/Paginas/techosNacionalesEmision.aspx> (accessed 13 Apr2020).
- 46 Aguilar R P. Validación del método Potenciométrico por Ión Selectivo para la determinación de Flúor en sal, agua y orina. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 2001; 18: 21–23.
- 47 Alfonsel Jaen M, Fernandez Gonzalez J. Effect of Temperature and light intensity on growth and Photosynthetic Activity of *Chlamydomonas reinhardt* II; Efecto de la temperatura e intensidad luminosa sobre el crecimiento y actividad fotosintética del alga *Chlamydomonas Reinhardt* II. 1985. <https://www.osti.gov/etdeweb/biblio/20961203> (accessed 23 Oct2020).
- 48 Fernández M, Martín RT. Influencia de la intensidad luminosa sobre la tasa fotosintética de plantas de una savia de pinos españoles. *Cuad Soc Esp Cienc For* 2005; : 73–78.
- 49 Garduño-Solórzano G, Godínez-Ortega JL, Ortega MM. Distribución geográfica y afinidad por el sustrato de las algas verdes (Chlorophyceae) bénticas de las costas mexicanas del Golfo de México y Mar Caribe. *Bot Sci* 2005; : 61–78.
- 50 Cuizano NA, Reyes UF, Dominguez S, Llanos BP, Navarro AE. Relevancia del PH en la adsorción de iones metálicos mediante algas pardas. *Rev Soc Quím Perú* 2010; 76: 123–130.
- 51 Ríos N, Medina G, Jiménez J, Yáñez C, García MY, Bernardo MLD *et al.* Actividad antibacteriana y antifúngica de extractos de algas marinas venezolanas. *Rev Peru Biol* 2009; 16: 097–100.
- 52 San-Miguel A, Martín-Gil FJ. Importancia de las especies reactivas al oxígeno (radicales libres) y los antioxidantes en clínica. *Gac Médica Bilbao* 2009; 106: 106–113.

- 53 Torres WH. BIOLOGÍA DE LAS ESPECIES DE OXÍGENO REACTIVAS. 2002; : 36.
- 54 San Miguel G. Participación de las especies reactivas del oxígeno en las enfermedades Pulmonares. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-75852004000200010 (accessed 23 Oct2020).
- 55 Carpio M, Linda M. Coliformes Fecales en Fuentes de Agua Para Consumo Humano del Distrito de la Joya. Arequipa, 2018. *Univ Católica St María* 2019; 2: 40–73.
- 56 Hidalgo-Valdivia A. Características Físicoquímicas y Microbiológicas del agua para abastecimiento del Distrito de la Joya, Arequipa 2013. *Univ Católica St María* 2016; 1: 20–103.
- 57 Amado-Camargo MF. “*Determinacion Bacteriologica De La calidad del agua de Consumo Humano, Regadio y Bebida de animales Del Distrito De Majes, Provincia de caylloma, Departamento de Arequipa, ABRIL - MAYO 2017*”. 2017.
- 58 Magallanes C, Córdova C, Orozco R. Actividad antibacteriana de extractos etanólicos de macroalgas marinas de la costa central del Perú. *Rev Peru Biol* 2003; 10: 125–132.
- 59 Guardia B, Rosario C. Actividad antibacteriana de macroalgas antárticas (himantothallus grandifolius y desmarestia confervoides) frente a cepas de yersinia ruckeri, aisladas de trucha arco iris (oncorhynchus mykiss). *Univ Nac Federico Villarreal* 2019.<http://repositorio.unfv.edu.pe/handle/UNFV/4162>.
- 60 González ME, González JÁ, Robles E, Martínez B, Sáinz M de G, Tolosa J *et al*. Calidad bacteriológica del agua utilizada en clínicas odontológicas. *Acta Odontológica Venez* 2007; 45: 33–36.
- 61 Solano-Barquero M, Chacón-Jiménez LM, Barrantes-Jiménez K, Achí-Araya R. Implementación de dos métodos de recuento en placa para la detección de colifagos somáticos, aportes a las metodologías estándar. *Rev Peru Biol* 2013; 19: 335–340.
- 62 La Serna-Solaris PB. Alfa de crombach - Metodo de Siembra en Superficie. 2019; : 21–46.
- 63 Espinoza-Manfugas J. Análisis sensorial de alimentos. <https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/icbi/n3/m1.html>.
- 64 Torricella-Morales RG, Zamora-Utset E, Pulido-Álvarez H. *Evaluación sensorial aplicada a la investigación, desarrollo y control de la calidad en la industria alimentaria*. Editorial Universitaria: Ciudad de La Habana, 2007<http://site.ebrary.com/id/10219508>.
- 65 Ramírez S JA, Parra V J. Análisis de técnicas de recuento de Microorganismos. ; 1: 32–50.
- 66 Silva L. Viscosidad en mezclas de agua Alianza SIDALC. 2018.<http://www.sidalc.net/cgi->

- bin/wxis.exe/?IsisScript=BIBACL.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=025949 (accessed 5 Feb2021).
- 67 Honores AMF, Izquierdo EA, Rodríguez EFR. Taxonomía e importancia de “spirulina” *Arthrospira jenneri* (Cyanophyceae: Oscillatoriaceae). 2019; : 14.
- 68 DIGESA. Parametros de Analisis Organoleptico. MINSA. ; : 16–58.
- 69 Weiss R. Resistenzprüfung von Bakterien mittels der Firefly-Biolumineszenz Ein Schnelltest - Scopus - Document details. Scopus. 2020.<https://ezproxy.ucsm.edu.pe:2449/record/display.uri?eid=2-s2.0-84995127615&origin=resultslist&sort=plf-f&src=s&st1=ATP+de+bacterias&st2=&sid=a76a73849b922cfad62ac65b76927b92&sot=b&sdt=b&sl=31&s=TITLE-ABS-KEY%28ATP+de+bacterias%29&relpos=0&citeCnt=1&searchTerm=> (accessed 27 Oct2020).
- 70 Yuan J. Characteristics of microbial denitrification under different aeration intensities: Performance, mechanism, and co-occurrence network Scopus - Document details. Scopus. 2020. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.141965.
- 71 Koyaapayyil A. An efficient and rapid synthesis route to highly fluorescent copper microspheres for the selective and sensitive excitation wavelength-dependent dual-mode sensing of NADH Scopus - Document details. 2020. doi:10.1016/j.snb.2020.128887.
- 72 Shao J. Pathway elucidation and engineering of plant-derived diterpenoids Scopus - Document details. 2020.<https://ezproxy.ucsm.edu.pe:2449/record/display.uri?eid=2-s2.0-85092060943&origin=resultslist&sort=plf-f&src=s&st1=escherichia+coli&st2=&sid=0d6670a8b6ff00c83d40daa5d0666275&sot=b&sdt=b&sl=31&s=TITLE-ABS-KEY%28escherichia+coli%29&relpos=0&citeCnt=0&searchTerm=> (accessed 27 Oct2020).
- 73 Klinger JC. Las reacciones de Fagocitosis - respuesta inmune. 2019; : 125.
- 74 MINAM. Decreto-Supremo-N°-015-2015-MINAM.pdf. Lima, 2015<http://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2015/12/Decreto-Supremo-N%C2%B0-015-2015-MINAM.pdf>.
- 75 MINAM. Decreto Supremo N°002-2008-minam.pdf. Lima, 2008https://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2013/09/ds_002-2008-minam.pdf.
- 76 Satlar F. Tendencias actuales en el patrón de susceptibilidad a los antimicrobianos de *Salmonella typhi* y *paratyphi* - Scopus. 2020.<https://ezproxy.ucsm.edu.pe:2449/record/display.uri?eid=2-s2.0-85084826959&origin=resultslist&sort=plf-f&src=s&st1=Samonella&st2=&sid=5ab1102bcd88bb0af1a34693ce71a44&sot=b&sdt=b&sl=24&s=TITLE-ABS-KEY%28Samonella%29&relpos=1&citeCnt=0&searchTerm=> (accessed 27 Oct2020).
- 77 Brugin R. Quantification of primary amines in the gas and particulate phases in ambient air impacted by combustion of diesel/biodiesel (B5)-Scopus - Document details.

- 2016.<https://ezproxy.ucsm.edu.pe:2449/record/display.uri?eid=2-s2.0-84979220444&origin=resultslist&sort=plf-f&src=s&st1=aminas&st2=&sid=6e3d517fee86ddf4f77fa391f7e13f60&sot=b&sdt=b&sl=21&s=TITLE-ABS-KEY%28aminas%29&relpos=9&citeCnt=0&searchTerm=>
(accessed 27 Oct2020).
- 78 Diaztagle R. Análisis comparativo del equilibrio ácido-base en pacientes con sepsis grave y shock séptico: enfoque tradicional frente a enfoque fisicoquímico Scopus - Document details. 2019. doi:10.15446/revfacmed.v67n4.65448.
- 79 Cacuro T. Alginate and its use as pH-sensitive polymer-Scopus - Document details. 2018.<https://ezproxy.ucsm.edu.pe:2449/record/display.uri?eid=2-s2.0-85057259306&origin=resultslist&sort=plf-f&src=s&st1=polimero&nlo=&nlr=&nls=&sid=35dc86290fac7b0543eb6ea245bf9618&sot=b&sdt=sisr&sl=23&s=TITLE-ABS-KEY%28polimero%29&ref=%28alga%29&relpos=0&citeCnt=0&searchTerm=>
(accessed 28 Oct2020).
- 80 MINAM. Estandares de Calidad Ambiental (ECA) para el agua y disposiciones complementarias. file:///C:/Users/ucsm/Downloads/ds-004-2017-minam.pdf.
- 81 Marias N, Quijano Scheggia SI, Olivos A, Pérez-Morales A, Rodríguez J. *Actividad antibiótica de extractos de Actinoptychus octonarius sobre Vibrio vulnificus y Staphylococcus aureus*. 2016.
- 82 Jaramillo-Ordoñez CE, Jaramillo-Ordoñez CE. Actividad antifúngica y antibacteriana in vitro del extracto etanólico de Usnea laevis frente a Candida albicans, Staphylococcus aureus y Pseudomonas aeruginosa. *Rev Medica Hered* 2020; 31: 169–174.
- 83 Lex Engel V, Poggiani F. Study of foliar chlorophyll concentration and its light absorption spectrum as related to shading at the juvenile phase of four native forest tree species. *Rev Bras Fisiol Veg* 2017; 3: 39–45.
- 84 Rop C, Jurikova K. Antioxidant properties of saskatoon berry (*Amelanchier alnifolia* Nutt.) fruits-Scopus - Document details. 2013. doi:10.1051/fruits/2013087.
- 85 Zaehring D. Persistent-green color snap beans (*Phaseolus vulgaris* L.): Color related constituents and quality of cooked fresh beans. 2018.<http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=catalco.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=055138> (accessed 3 Feb2021).



ANEXOS:



***ANEXO N°1:
ANÁLISIS SENSORIAL***

✓ PROTOCOLO DE ENTRENAMIENTO A PANELISTAS SEMI-ENTRENADOS⁶³:

○ Juez Semi-entrenado: Son conocidos como panelistas de Laboratorio, o personas con un entrenamiento teórico similar al de los jueces entrenados que realizan pruebas sensoriales y que poseen suficiente habilidad, pero que intervienen en pruebas sencillas que no requieren de una definición muy precisa de términos¹⁰.

○ Formación de un panel semientrenado: Se debe considerar las siguientes etapas, reclutamiento, selección y entrenamiento básico en el caso de panelistas semientrenados⁶⁶, para desarrollar cada uno de los procesos se consideró la Norma ISO 85:2012, la cual considera los siguientes puntos:

▪ Reclutamiento y selección: Se agrupó panelistas que ya hayan llevado el curso de control de calidad y manejo de muestras, por ser un curso que establece análisis sensorial, el número que se requirió para el desarrollo de la investigación fue de 10 panelistas por cada análisis⁶³. Para el reclutamiento se tomó en cuenta, el grado de interés y motivación que presentaba el panelista para ejecutar la prueba, la actitud hacia las muestras, buena salud, disponibilidad para recibir las instrucciones¹⁰.

▪ Entrenamiento: Se les proporcionó a los jueces instrucciones de escalas y puntuaciones con el objetivo de que los jueces sean capaces de detectar y reconocer características en las muestras⁶⁶.

Validación del Panel: Se controló periódicamente la eficacia y comportamiento de los jueces a través de la observación y análisis de resultados, para comprobar si los jueces pueden obtener resultados apropiados y reproducibles, así analizar la capacidad del panel para detectar, identificar y medir un atributo⁶³.



***ANEXO N°2:
ANTIBIOGRAMA***

SECCION 8²⁰

ANTIBIOGRAMA PARA ENTEROBACTERIACEAE

- MEDIO DE CULTIVO

- Agar Mueller Hinton

- INOCULO

Método de crecimiento o suspensión directa de la colonia. Ajustar a la turbidez equivalente al estándar 0.5 de la escala de Mc. Farland.

- INCUBACIÓN

35°C

- LECTURA

15 – 18h

- INTERPRETACION DE LOS DIAMETROS CRITICOS

Antibióticos y diámetros críticos

Antimicrobiano	Contenido del disco	Diámetro en mm		
		R	I	S
PENICILINAS				
Ampicilina	10ug	13	14-16	17
CEFALOSPORINAS				
Cefalotina	30ug	14	15-17	18
Cefuroxima axetil	30ug	14	15-22	23
Cefuroxima sodium	30ug	14	15-17	18
Cefoxitina	30ug	14	15-17	18
Cefotaxima	30ug	14	15-22	23
Ceftriaxona	30ug	13	15-20	21
Ceftazidima	30ug	14	15-17	18
Cefixima	30ug	15	15-18	19
Cefpirome	30ug	14	15-17	18
Cefepime	30ug	14	15-17	18
B LACTAMICO / INHIBIDOR DE BATALACTAMASA				
Ampicilina /Sulbactam	10/10ug	11	12-14	15
Amoxicilina /Acido Clavulanico	20/10ug	13	14-17	18
Cefaperazona /sulbactam +	75ug/ 30ug	15	16-20	21

MONOBACTAMS				
Aztreonam	30ug	15	16-21	22
CARBAPENEMS				
Imipenem	10ug	13	14-15	16
Meropenem	10ug	13	14-15	16
AMINOGLUCOSIDOS				
Gentamicina	10ug	12	13-14	15
Amikacina	30ug	14	15-16	17
QUINOLONAS				
Ácido nalidixico	30ug	13	14-18	19
Norfloxacina	10ug	12	13-16	17
Ciprofloxacina	5ug	15	16-20	21
Ofloxacina	5ug	12	13-15	16
TETRACICLINA				
Tetraciclina	30ug	14	15-18	19
OTROS				
Cloramfenicol	30ug	12	13-17	18
Trimetoprim/Sulfametoxazol	1.25/23.75ug	10	11-15	16

Diámetros críticos adaptados del CFA – SFM, 2000 – 2001.

Adaptado a partir de los diámetros críticos de la Cefoperazona según el NCCLS 2001





***ANEXO N°3:
FICHA DE REGISTRO DE DATOS Y FICHA
ESCALAR***

- ✓ Fichas de registro de datos (Elaborada en forma específica y legítima para el presente estudio).

FICHA DE DATOS: EXPERIMENTO N°01 - Efecto Bactericida del Alga (<i>Ulva spp.</i>)						
INVESTIGADOR:						
INTRODUCCION:						
<p>El presente instrumento forma parte del trabajo de investigación titulado: “EFICACIA DEL EFECTO BACTERICIDA Y CONSERVANTE DEL ALGA (<i>ULVA SPP</i>) SOBRE CEPAS DE ESCHERICHIA COLI Y SALMONELLA SPP. APLICADO EN AGUA UTILIZADA EN FUNDO PRIVADO DE LA PROVINCIA DE CAMANÁ. AREQUIPA, 2020“</p> <p>La información que se suscribe es de carácter confidencial y reservado ya que los resultados serán manejados para los fines de la investigación.</p> <p style="text-align: center;">A continuación, se registrará cada dato según el tratamiento ejecutado</p>						
SUBINDICADORES						
<p style="text-align: center;">Cepas de Bacterias: B</p> <p>B₁= E. Coli B₂=Salmonella spp.</p> <p style="text-align: center;">Concentración de Extracto Bioactivo: CEB</p> <p>CEB₁=1.0% Extracto Bioactivo del Alga <i>Ulva spp.</i> CEB₂=0.5% Extracto Bioactivo del Alga <i>Ulva spp.</i> CEB₃=0.25% Extracto Bioactivo del Alga <i>Ulva spp.</i></p>						
REGISTRO DE DATOS						
		B1			B2	
		CEB1	CEB2	CEB3	CEB1	CEB2
	X1					
	X2					
	X3					
	X4					
	X5					
BAREMO:						
SENSIBLE (S)		>=15 mm				
INTERMEDIO (I)		>=12 mm y <15 mm				
RESISTENTE (E)		>=10mm y <12 mm				
Diámetros críticos adaptados del CFA – SFM, 2000 – 2001.						

FICHA DE DATOS: EXPERIMENTO N°02 (1)- Efecto Conservante del Alga (*Ulva spp.*) aplicado en Agua

INVESTIGADOR:

INTRODUCCION:

El presente instrumento forma parte del trabajo de investigación titulado: “EFICACIA DEL EFECTO BACTERICIDA Y CONSERVANTE DEL ALGA (*ULVA SPP*) SOBRE CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* Y *SALMONELLA SPP.* APLICADO EN AGUA UTILIZADA EN FUNDO PRIVADO DE LA PROVINCIA DE CAMANÁ. AREQUIPA, 2020”

La información que se suscribe es de carácter confidencial y reservado ya que los resultados serán manejados para los fines de la investigación.

A continuación, se registrará cada dato según el tratamiento ejecutado

SUBINDICADORES

Concentración de Extracto Bioactivo: CEB

CEB₁=0.5% de Extracto bioactivo

CEB₂=0.3% de Extracto bioactivo

CEB₃=0.25% de Extracto bioactivo

Tiempo de Exposición a T°amb del agua: T

T₁=1 día

T₂=5 días

T₃=10 días

REGISTRO DE DATOS

RECuento DE ESCHERICHIA COLI

	T1			T2			T3		
	CEB1	CEB2	CEB3	CEB1	CEB2	CEB3	CEB1	CEB2	CEB3
RECX1									
RECX2									
RECX3									
RECX4									
RECX5									

BAREMO:

	TVU	REC
CONSERVANTE	Día 1, 5, 10	0
SEMI-CONSERVANTE	Día 1, 5, 10	10 ⁰
NULO	Día 1, 5, 10	>10 ⁰

*TVU: Tiempo de Vida Útil *REC: Recuento de Escherichia Coli (ufc)

*0 =Ausencia expresado en tablas

FICHA DE DATOS : EXPERIMENTO N°02 (2) - Efecto Conservante del Alga (<i>Ulva spp.</i>) aplicado en Agua									
INVESTIGADOR:									
INTRODUCCION:									
<p>El presente instrumento forma parte del trabajo de investigación titulado: “EFICACIA DEL EFECTO BACTERICIDA Y CONSERVANTE DEL ALGA (<i>ULVA SPP</i>) SOBRE CEPAS DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> Y <i>SALMONELLA SPP.</i> APLICADO EN AGUA UTILIZADA EN FUNDO PRIVADO DE LA PROVINCIA DE CAMANÁ. AREQUIPA, 2020“</p> <p>La información que se suscribe es de carácter confidencial y reservado ya que los resultados serán manejados para los fines de la investigación.</p> <p>A continuación, se registrará cada dato según el tratamiento ejecutado</p>									
SUBINDICADORES									
<p><u>Concentración de Extracto Bioactivo: CEB</u></p> <p>CEB₁=0.5% de Extracto bioactivo CEB₂=0.3% de Extracto bioactivo CEB₃=0.25% de Extracto bioactivo</p> <p><u>Tiempo de Exposición a T°amb del agua</u></p> <p>T₁=1 día T₂=5 días T₃=10 días</p>									
REGISTRO DE DATOS									
RECuento DE SALMONELLA SPP.									
	T1			T2			T3		
	CEB1	CEB2	CEB3	CEB1	CEB2	CEB3	CEB1	CEB2	CEB3
RECX1									
RECX2									
RECX3									
RECX4									
RECX5									
BAREMO:									
	TVU	RS							
CONSERVANTE	Día 1, 5, 10	0							
SEMI-CONSERVANTE	Día 1, 5, 10	10 ⁰							
NULO	Día 1, 5, 10	>10 ⁰							
*TVU: Tiempo de Vida Útil *RS: Recuento de Salmonella spp (ufc). *0 =Ausencia expresado en tablas									

✓ Ficha Escalar con escalas de categoría

Cód.

CARTILLA DE ACEPTABILIDAD GENERAL

Nombres.....Edad.....

Apellido paterno.....Sexo.....

Apellido Materno.....Fecha y Hora.....

INSTRUCCIONES

Se presenta 9 muestras de agua, usted debe elegir una de las alternativas que se le muestran a continuación, de acuerdo a las características que está evaluando.

El producto: _____

Código	OLOR	COLOR	VISCOSIDAD
X1			
X2			
X3			
X4			
X5			
X6			
X7			
X8			
X9			

OLOR

COLOR

VISCOSIDAD

CRITERIO	PUNTUACIÓN
Muy agradable	5
Agradable	4
Aceptable	3
Regular	2
Desagradable	1

CRITERIO	PUNTUACIÓN
Muy bueno	5
Bueno	4
Aceptable	3
Regular	2
Malo	1

CRITERIO	PUNTUACIÓN
Muy buena	5
Buena	4
Aceptable	3
Regular	2
Mala	1

Si usted eligió 5 o 1, diga ¿por qué?

.....

Observaciones.....

Gracias por su colaboración.



Representaciones Fotográficas del estudio previo para inicio de la investigación

Año 2019



Representación del reconocimiento
del área y análisis de sus aguas en el
año 2019

Representación del análisis organoléptico
de las aguas del Fundo en el año 2019

Representaciones Fotográficas de la ejecución de la investigación

Año 2020



Representación de registro de datos
en campo siguiendo el Protocolo de
Monitoreo para Recursos Hídricos –
ANA

Representación de seguimiento del
Protocolo de Monitoreo para Recursos
Hídricos – ANA – ubicación de punto
muestreal



Representación del seguimiento del Protocolo de Monitoreo para Recursos Hídricos – ANA – recepción de muestras



Representación de toma de características de la muestra como seguimiento del Protocolo de muestreo.



Representación del cuidado de las muestras, conservación y preservación de muestras



Representación del Registro del Punto de Monitoreo



Representación del fundo privado, se observa el proceso de formación de masas durante la siembra del arroz



Representación del llenado de los Registros de datos en campo, ubicando observaciones por identificación de tyzon



**Se identifica en la malquera
producción afectada por la presencia
de tyzon**



**Se identifica restos de Pyricularia en
producción de arroz durante la fase de
siembra**



**Se identifica infección en fase de
reproducción con afectación del
cultivo de arroz previo a la
formación del malque**



**Representación del análisis organoléptico
de la producción e identificación de zonas del
herbaceo infectado**



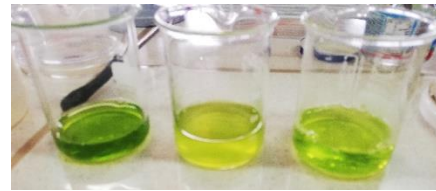
**Representación de la materia prima
Alga Ulva spp.**



**Se representa la materia residual derivado
de la extracción**



Se representa el proceso de extracción del bioactivo del Alga *Ulva* spp.



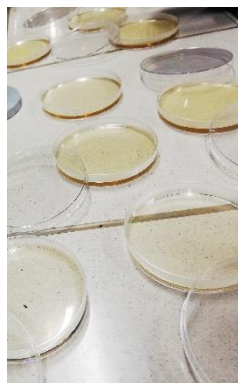
Se representa los extractos de las tres concentraciones que se utilizaron para el efecto bactericida.



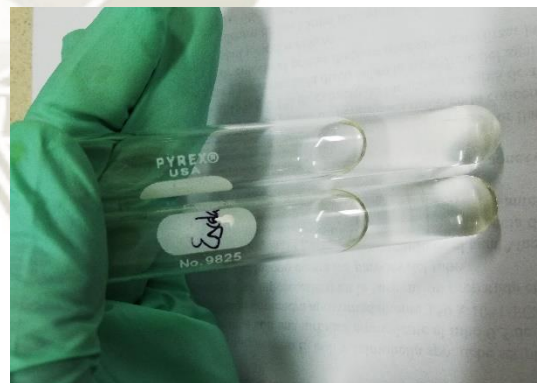
Se representa los valores de absorbancia a 650nm y 665nm



Representación de la determinación del efecto bactericida



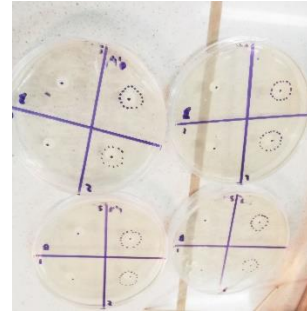
Representación del Agar Mueller Hinton en la fase de la determinación del efecto bactericida



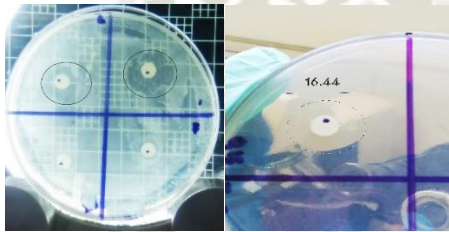
Representación de la escala de Mc Farland listos para ser aplicado en el análisis del efecto bactericida



Representación del momento del hisopado para la siembra en superficie



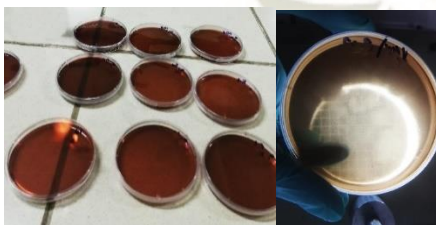
Representación de placas con Agar Mueller Hinton durante la fase de análisis del efecto bactericida



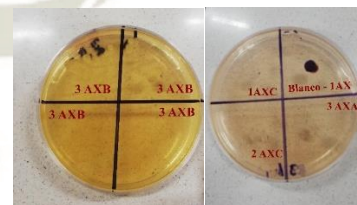
Representación del tamaño de halo en muestra desarrollada para el efecto bactericida



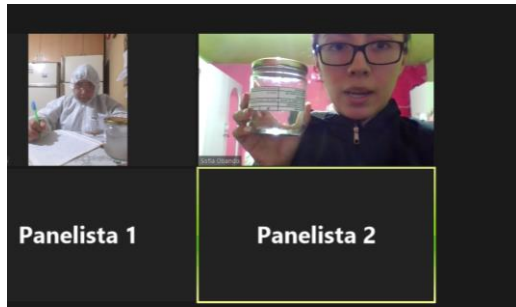
Recuento y siembra en superficie de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* en agua del fondo privado sin extracto bioactivo



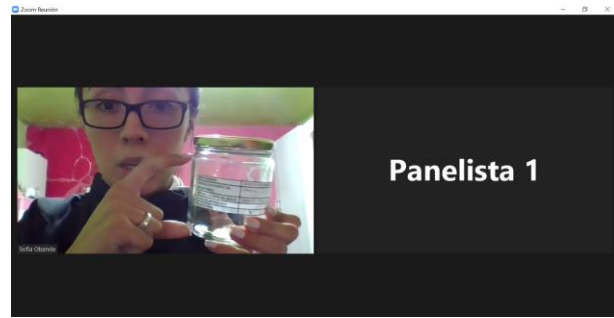
Representación del recuento de *Escherichia coli* durante – efecto conservante



Representación del recuento de *Salmonella spp.* – efecto conservante



**Representación del proceso de
entrenamiento a panelistas para la
evaluación de las muestras de agua a
tres concentraciones y tres tiempos**



**Representación del proceso final de
entrenamiento para la ejecución del análisis
del efecto conservante**



**Representación final durante la entrega de los resultados para las mejoras y el
beneficio del fundo privado de la provincia de Camaná.**



● Registro de Identificación del Punto de Monitoreo

Registro De Identificación Del Punto De Monitoreo

Nombre del cuerpo de agua: Dren - Fundo Hatoare
 Clasificación del cuerpo de agua: Dren
 Código y nombre de la cuenca: 13411 - Camana - Fundo Hatoare

IDENTIFICACION DEL PUNTO
 Código del punto de monitoreo: UH - 132
 Descripción: (Origen /Ubicación) Anexo Uchumayo S/N
 Accesibilidad: Dren ubicada a 20 metros del área de Producción
 Representatividad: Alfama del dren cercano a la zona de Producción
 Finalidad del monitoreo: Controlar la contaminación de la zona
 Reconocimiento del entorno: UH-132, zona Privada del Fundo Hatoare - Camana

UBICACIÓN:
 Distrito: Camana Provincia: Camana Departamento: Moquegua
 Localidad: Camana - Fundo Hatoare Anexo Uchumayo S/N
 Coordenadas: Sistemas de Coordenadas: Proyección UTM Geográficas
 Norte/Latitud: -16.620
 Este/Longitud: -72.7117

Elaborado por Ing. Sofía del Mar Osando Gómez Fecha: 15 de Octubre del 2020
 Firma:
 7253117
 SOFÍA DEL MAR OSANDO GÓMEZ
 Ingeniera De Industria Alimentaria
 CIP N° 232526

● Registro de Cadena de Custodia

Cadena De Custodia

Responsible del muestreo: Ing. Sofía del Mar Osando Gómez Provincia: Camana
 Dirección: Fundo Hatoare Anexo Uchumayo S/N Distrito: Camana
 Preservación: Parámetros Biológicos Firma: Osando

Código de Campo	Fecha de Muestreo	Hora de Muestreo	N° de envases por punto de muestreo (1)			T°C	Escherichia Coli	Salmonela spp.	Observaciones
			P*	V*	E*				
13411-1L	15/10/2020	9:00 am	✓	✓	✓	22,5°C a 6°C	✓	✓	Se observa el terreno cercano al dren
13411-1A	15/10/2020	9:20 am	✓	✓	✓	21,8°C a 6°C	✓	✓	Se observan copros de los patos
13411-2c	15/10/2020	10:00 am	✓	✓	✓	21,6°C a 6°C	✓	✓	Se hallan animales en el terreno
13411-3A	15/10/2020	10:31 am	✓	✓	✓	21,5°C a 6°C	✓	✓	Se escuchan los patos por el dren
13411-4C	15/10/2020	10:45 am	✓	✓	✓	21,5°C a 6°C	✓	✓	Existe qui macas en el terreno
13411-2A	15/10/2020	11:19 am	✓	✓	✓	22,5°C a 6°C	✓	✓	Se perciben personas trabajando
13411-4A	15/10/2020	11:23 am	✓	✓	✓	22,5°C a 6°C	✓	✓	Se perciben personas en el dren
13411-5C	15/10/2020	11:42 am	✓	✓	✓	22,7°C a 6°C	✓	✓	Se observa el dren y el terreno
13411-7B	15/10/2020	12:01 pm	✓	✓	✓	22,7°C a 6°C	✓	✓	Se perciben personas en el dren
13411-5B	16/10/2020	8:36 am	✓	✓	✓	20,1°C a 6°C	✓	✓	Se observan patos y vacas
13411-4C	16/10/2020	8:48 am	✓	✓	✓	20,1°C a 6°C	✓	✓	Se observan vacas y vacas
13411-5A	16/10/2020	9:51 am	✓	✓	✓	20,2°C a 6°C	✓	✓	Se observan vacas y vacas
13411-1D	16/10/2020	10:17 am	✓	✓	✓	20,3°C a 6°C	✓	✓	Se observan vacas y vacas
13411-2D	16/10/2020	10:39 am	✓	✓	✓	20,4°C a 6°C	✓	✓	Se observan vacas y vacas
13411-5D	16/10/2020	11:11 am	✓	✓	✓	21,4°C a 6°C	✓	✓	Se observan vacas y vacas
13411-6A	16/10/2020	11:31 am	✓	✓	✓	22,0°C a 6°C	✓	✓	Dren para diversos usos agrícolas y producción
13411-6D	16/10/2020	12:03 pm	✓	✓	✓	22,1°C a 6°C	✓	✓	Se observan vacas y vacas
13411-6B	16/10/2020	12:11 pm	✓	✓	✓	23,0°C a 6°C	✓	✓	Se observan vacas y vacas
13411-7A	16/10/2020	1:01 pm	✓	✓	✓	23,0°C a 6°C	✓	✓	Se observan vacas y vacas
13411-6C	16/10/2020	1:09 pm	✓	✓	✓	22,4°C a 6°C	✓	✓	Se observan vacas y vacas
13411-7D	16/10/2020	2:30 pm	✓	✓	✓	22,3°C a 6°C	✓	✓	La zona

Firma:
 SOFÍA DEL MAR OSANDO GÓMEZ
 Ingeniera De Industria Alimentaria
 CIP N° 232526



***ANEXO N°6:
VALIDACIÓN DE INSTRUMENTOS***

Observaciones Variable N°01 (precisar si hay suficiencia): Sin observaciones

Opinión de aplicabilidad: Aplicable Aplicable después de corregir No aplicable

Apellidos y nombres del juez validador, Dr Mg: Torrealanca Zapana, María Elena
DNI: 29458583

Especialidad del validador: Doctorada en Salud Pública

*Pertinencia: El subindicador corresponde al concepto teórico formulado por la variable.
*Relevancia: El subindicador es apropiado para representar a la variable.
*Claridad: Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del subindicador, es conciso, exacto y directo.
Nota: Suficiencia, se dice suficiencia cuando los ítems planteados son suficientes para medir la variable.

Colección de Ejemplares del Perú
 Oficina Regional V
 Calle 1130
 Lima 18100
 Firma del Experto Informante.

CERTIFICADO DE VALIDEZ DE CONTENIDO DEL INSTRUMENTO QUE MIDE LA VARIABLE N°01: EFECTO BACTERICIDA DEL ALGA (ULVA SPP.)

N°	SUBINDICADORES	PERTINENCIA		RELEVANCIA		CLARIDAD		OBSERVACIONES
		SI	NO	SI	NO	SI	NO	
1	Cepas de Bacterias:							
	E. Coli	✓		✓		✓		Se valida la pertinencia, relevancia y claridad del instrumento
	Salmonella spp.	✓		✓		✓		Se valida la pertinencia, relevancia y claridad del instrumento
2	Concentración de Extracto Bioactivo:							
	1.0% Extracto Bioactivo del Alga Ulva spp.	✓		✓		✓		Se valida la pertinencia, relevancia y claridad de los resultados bajo la concentración de 1.0% de Extracto Bioactivo del Alga Ulva spp.
	0.5% Extracto Bioactivo del Alga Ulva spp.	✓		✓		✓		Se valida la pertinencia, relevancia y claridad de los resultados bajo la concentración de 0.5% de Extracto Bioactivo del Alga Ulva spp.
	0.25% Extracto Bioactivo del Alga Ulva spp.	✓		✓		✓		Se valida la pertinencia, relevancia y claridad de los resultados bajo la concentración de 0.25% de Extracto Bioactivo del Alga Ulva spp.

Observaciones Variable N°02 (precisar si hay suficiencia): Sin observaciones

Opinión de aplicabilidad: Aplicable Aplicable después de corregir No aplicable

Apellidos y nombres del juez validador, Dr Mg: Torrealanca Zapana, María Elena
DNI: 29458583

Especialidad del validador: Doctorada en Salud Pública

*Pertinencia: El subindicador corresponde al concepto teórico formulado por la variable.
*Relevancia: El subindicador es apropiado para representar a la variable.
*Claridad: Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del subindicador, es conciso, exacto y directo.
Nota: Suficiencia, se dice suficiencia cuando los ítems planteados son suficientes para medir la variable.

Colección de Ejemplares del Perú
 Oficina Regional V
 Calle 1130
 Lima 18100
 Firma del Experto Informante.

CERTIFICADO DE VALIDEZ DE CONTENIDO DEL INSTRUMENTO QUE MIDE LA VARIABLE N°02: EFECTO CONSERVANTE DEL ALGA (ULVA SPP.) APLICADO EN AGUA

N°	SUBINDICADORES/ESCALAS	PERTINENCIA		RELEVANCIA		CLARIDAD		OBSERVACIONES
		SI	NO	SI	NO	SI	NO	
1	1 día	✓		✓		✓		Se comprobó la validez del instrumento que mide la conservación, se comparó la pertinencia del instrumento para el uso del subindicador 1 día y 0.5% de Extracto Bioactivo
	5 día	✓		✓		✓		Se comprobó la validez del instrumento que mide la conservación, se comparó la pertinencia del instrumento para el uso del subindicador 5 día y 0.5% de Extracto Bioactivo
	10 día	✓		✓		✓		Se comprobó la validez del instrumento que mide la conservación, se comparó la pertinencia del instrumento para el uso del subindicador 10 día y 0.5% de Extracto Bioactivo
2	1 día	✓		✓		✓		Se comprobó la validez del instrumento que mide la conservación, se comparó la pertinencia del instrumento para el uso del subindicador 1 día y 0.3% de Extracto Bioactivo
	5 día	✓		✓		✓		Se comprobó la validez del instrumento que mide la conservación, se comparó la pertinencia del instrumento para el uso del subindicador 5 día y 0.3% de Extracto Bioactivo
	10 día	✓		✓		✓		Se comprobó la validez del instrumento que mide la conservación, se comparó la pertinencia del instrumento para el uso del subindicador 10 día y 0.3% de Extracto Bioactivo
3	1 día	✓		✓		✓		Se comprobó la validez del instrumento que mide la conservación, se comparó la pertinencia del instrumento para el uso del subindicador 1 día y 0.25% de Extracto Bioactivo
	5 día	✓		✓		✓		Se comprobó la validez del instrumento que mide la conservación, se comparó la pertinencia del instrumento para el uso del subindicador 5 día y 0.25% de Extracto Bioactivo
	10 día	✓		✓		✓		Se comprobó la validez del instrumento que mide la conservación, se comparó la pertinencia del instrumento para el uso del subindicador 10 día y 0.25% de Extracto Bioactivo

Observaciones Variable N°01 (precisar si hay suficiencia): Las pruebas se realizaron con suficiencia

Opinión de aplicabilidad: Aplicable [✓] Aplicable después de corregir [] No aplicable []

Apellidos y nombres del juez validador: Dávalos Delgado Diana Karen DNI: 45867353

Especialidad del validador: Ingeniería Biotecnología

*Pertinencia: El subindicador corresponde al concepto teórico formulado por la variable.
 *Relevancia: El subindicador es apropiado para representar a la variable.
 *Claridad: Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del subindicador, es conciso, exacto y directo.
 Nota: Suficiencia, se dice suficiencia cuando los ítems planteados son suficientes para medir la variable.

INGENIERA DIANA KAREN DÁVALOS DELGADO
 Registro 187538 - BIOTECNOLOGA
 Firma del Experto Informante.

CERTIFICADO DE VALIDEZ DE CONTENIDO DEL INSTRUMENTO QUE MIDE LA VARIABLE N°01: EFECTO BACTERICIDA DEL ALGA (ULVA SPP.)

N°	SUBINDICADORES		PERTINENCIA		RELEVANCIA		CLARIDAD		OBSERVACIONES
			SI	NO	SI	NO	SI	NO	
1	Cepas de Bacterias:	E. Coli	✓		✓		✓		Se valida el instrumento y se comprobó su eficiencia para medir la variable N°01
		Salmonella spp.	✓		✓		✓		Se valida el instrumento y se comprobó su eficiencia para medir la variable N°01
2	Concentración de Extracto Bioactivo:	1.0% Extracto Bioactivo del Alga Ulva spp.	✓		✓		✓		Se precisa la optimización del instrumento para medir la variable N°01
		0.5% Extracto Bioactivo del Alga Ulva spp.	✓		✓		✓		Se precisa la optimización del instrumento para medir la variable N°01
		0.25% Extracto Bioactivo del Alga Ulva spp.	✓		✓		✓		Se precisa la optimización del instrumento para medir la variable N°01

CERTIFICADO DE VALIDEZ DE CONTENIDO DEL INSTRUMENTO QUE MIDE LA VARIABLE N°02: EFECTO CONSERVANTE DEL ALGA (ULVA SPP.) APLICADO EN AGUA

N°	SUBINDICADORES/ESCALAS		PERTINENCIA		RELEVANCIA		CLARIDAD		OBSERVACIONES
			SI	NO	SI	NO	SI	NO	
1	1 día	0.5% de Extracto bioactivo	✓		✓		✓		Se comprobó la validez del instrumento y su eficiencia, pertinencia, relevancia y claridad para el diseño estadístico al interactuar 1 día de efecto conservante al 0.5% de extracto bioactivo
	5 día		✓		✓		✓		Se comprobó la validez del instrumento y su eficiencia, pertinencia, relevancia y claridad para el diseño estadístico al interactuar 5 días de efecto conservante al 0.5% de extracto bioactivo
	10 día		✓		✓		✓		Se comprobó la validez del instrumento y su eficiencia, pertinencia, relevancia y claridad para el diseño estadístico al interactuar 10 días de efecto conservante al 0.5% de extracto bioactivo
2	1 día	0.3% de Extracto bioactivo	✓		✓		✓		Se comprobó la validez del instrumento y su eficiencia, pertinencia, relevancia y claridad para el diseño estadístico al interactuar 1 día de efecto conservante al 0.3% de extracto bioactivo
	5 día		✓		✓		✓		Se comprobó la validez del instrumento y su eficiencia, pertinencia, relevancia y claridad para el diseño estadístico al interactuar 5 días de efecto conservante al 0.3% de extracto bioactivo
	10 día		✓		✓		✓		Se comprobó la validez del instrumento y su eficiencia, pertinencia, relevancia y claridad para el diseño estadístico al interactuar 10 días de efecto conservante al 0.3% de extracto bioactivo
3	1 día	0.25% de Extracto bioactivo	✓		✓		✓		Se comprobó la validez del instrumento y su eficiencia, pertinencia, relevancia y claridad para el diseño estadístico al interactuar 1 día de efecto conservante al 0.25% de extracto bioactivo
	5 día		✓		✓		✓		Se comprobó la validez del instrumento y su eficiencia, pertinencia, relevancia y claridad para el diseño estadístico al interactuar 5 días de efecto conservante al 0.25% de extracto bioactivo
	10 día		✓		✓		✓		Se comprobó la validez del instrumento y su eficiencia, pertinencia, relevancia y claridad para el diseño estadístico al interactuar 10 días de efecto conservante al 0.25% de extracto bioactivo

Observaciones Variable N°01 (precisar si hay suficiencia): Las pruebas se desarrollaron con Total suficiencia.

Opinión de aplicabilidad: Aplicable Aplicable después de corregir No aplicable

Apellidos y nombres del juez validador: Reinoso Aguirre Laís Alejandra DNI: 46574228

Especialidad del validador: Médica Cirujana / Licenciada en medicina

*Pertinencia: El subíndice corresponde al concepto técnico formulado por la variable.
*Relevancia: El subíndice es apropiado para nombrar a la variable.
*Claridad: Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del subíndice, es conciso, exacto y directo.
Nota: Suficiencia se dice suficiencia cuando los ítems planteados son suficientes para medir la variable.

Lais A. Reinoso Aguirre
Licenciada en Medicina
Col. N° 182819507

Firma del Experto Informante.

Escaneado con CamScanner

**CERTIFICADO DE VALIDEZ DE CONTENIDO DEL INSTRUMENTO QUE MIDE
LA VARIABLE N°01: EFECTO BACTERICIDA DEL ALGA (ULVA SPP.)**

N°	SUBINDICADORES	PERTINENCIA		RELEVANCIA		CLARIDAD		OBSERVACIONES
		SI	NO	SI	NO	SI	NO	
1	Cepas de Bacterias:							
	E. Coli	✓		✓		✓		Se comprobó la validez del instrumento y se precisa la relevancia de este para la variable N°01
	Salmonella spp.	✓		✓		✓		Se comprobó la validez del instrumento y se precisa la relevancia de este para la variable N°01
2	Concentración de Extracto Bioactivo:							
	1.0% Extracto Bioactivo del Alga Ulva spp.	✓		✓		✓		Se comprobó la validez del instrumento y se precisa la relevancia de este para la variable N°01
	0.5% Extracto Bioactivo del Alga Ulva spp.	✓		✓		✓		Se comprobó la validez del instrumento y se precisa la relevancia de este para la variable N°01
	0.25% Extracto Bioactivo del Alga Ulva spp.	✓		✓		✓		Se comprobó la validez del instrumento y se precisa la relevancia de este para la variable N°01

Lais A. Reinoso Aguirre
Licenciada en Medicina
Col. N° 182819507

Firma del Experto Informante.

Observaciones Variable N°02 (precisar si hay suficiencia): Las pruebas se desarrollaron con Total suficiencia.

Opinión de aplicabilidad: Aplicable Aplicable después de corregir No aplicable

Apellidos y nombres del juez validador: Reinoso Aguirre Laís Alejandra DNI: 46574228

Especialidad del validador: Médica Cirujana / Licenciada en medicina

*Pertinencia: El subíndice corresponde al concepto técnico formulado por la variable.
*Relevancia: El subíndice es apropiado para nombrar a la variable.
*Claridad: Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del subíndice, es conciso, exacto y directo.
Nota: Suficiencia se dice suficiencia cuando los ítems planteados son suficientes para medir la variable.

Lais A. Reinoso Aguirre
Licenciada en Medicina
Col. N° 182819507

Firma del Experto Informante.

Escaneado con CamScanner

**CERTIFICADO DE VALIDEZ DE CONTENIDO DEL INSTRUMENTO QUE MIDE
LA VARIABLE N°02: EFECTO CONSERVANTE DEL ALGA (ULVA SPP.) APLICADO EN AGUA**

N°	SUBINDICADORES/ESCALAS		PERTINENCIA		RELEVANCIA		CLARIDAD		OBSERVACIONES
			SI	NO	SI	NO	SI	NO	
1	1 día	0.5% de Extracto bioactivo	✓		✓		✓		Se compararon la validez del instrumento -falta de datos durante la aplicación de la variable N°02
	5 día		✓		✓		✓		Se compararon la validez del instrumento -falta de datos durante la aplicación de la variable N°02, se aplicó la información para la aplicación del ABT/AV
	10 día		✓		✓		✓		Se compararon la validez del instrumento -falta de datos durante la aplicación de la variable N°02, se comparó la validez aplicando del instrumento
2	1 día	0.3% de Extracto bioactivo	✓		✓		✓		Se compararon la validez del instrumento -falta de datos durante la aplicación de la variable N°02, se compararon el tipo de datos recolectados
	5 día		✓		✓		✓		Se compararon la validez del instrumento -falta de datos durante la aplicación de la variable N°02, el instrumento permite obtener información directa para facilitar su interpretación
	10 día		✓		✓		✓		Se compararon la validez del instrumento -falta de datos durante la aplicación de la variable N°02, el instrumento permite obtener información directa para facilitar su interpretación
3	1 día	0.25% de Extracto bioactivo	✓		✓		✓		Se compararon la validez del instrumento -falta de datos durante la aplicación de la variable N°02, el instrumento permite obtener información directa para facilitar su interpretación
	5 día		✓		✓		✓		Se compararon la validez del instrumento -falta de datos durante la aplicación de la variable N°02, el instrumento permite obtener información directa para facilitar su interpretación
	10 día		✓		✓		✓		Se compararon la validez del instrumento -falta de datos durante la aplicación de la variable N°02, el instrumento permite obtener información directa para facilitar su interpretación

LUIS A. DEL AGUIA
 Docente Investigador
 del N°02

 Oficina del Sistema de Investigación





***ANEXO N°7:
PARÁMETROS ORGANOLÉPTICOS***

DIGESA

GESTA AGUA

PARÁMETROS ORGANOLÉPTICOS

DIGESA

GESTA AGUA

GESTA AGUA
Grupo de Estudio Técnico Ambiental

Parámetro a Evaluar:

ORGANOLÉPTICO

OLOR

FUENTE

Las aguas superficiales pueden parecer altamente coloreadas debido a la presencia de materia pigmentada en suspensión, cuando en realidad el agua no tiene color. El material colorante resulta del contacto con detritus orgánicos como hojas, agujas de coníferas y madera, en diversos estados de descomposición, está formado por una considerable variedad de extractos vegetales.

CARACTERÍSTICAS

El color causado por la materia en suspensión es llamado color aparente y es diferente al color debido a extractos vegetales u orgánicos, que son colorales, al que se llama color real. En el análisis del agua es importante diferenciar entre el color aparente y el real.

RIESGOS PARA LA SALUD

- No permite el paso de la luz para el desarrollo de la biodiversidad.
- Su presencia indicaría ineficiencia en el tratamiento de aguas y de la integridad del sistema de distribución.

METODO DE ANALISIS

Para determinar el color mediante los métodos actualmente aceptados, es necesario eliminarla turbidez antes de proceder al análisis. Tenemos dos métodos que son utilizados

- Método de comparación visual
- Método espectrofotométrico

CONCENTRACIONES ESTABLECIDAS POR GUIAS INTERNACIONALES

A1: La normativa de Tailandia considera que no debe haber presencia, pero en tanto la normativa de Honduras considera 15 Pt/Co como máximo para aguas de simple desinfección y la Comunidad Económica Europea - CEE para Aguas superficiales destinadas a la producción de Agua Potable consideran 20 Pt/Co al igual que la Norma de Calidad Ambiental y de descarga de efluentes de Ecuador.

A2: La normativa de Tailandia considera que no debe haber presencia, y la Comunidad Económica Europea - CEE para Aguas superficiales destinadas a la producción de Agua Potable consideran 100 Pt/Co

A3: La normativa de Tailandia considera que no debe haber presencia, y la Comunidad Económica Europea - CEE para Aguas superficiales destinadas a la producción de Agua Potable consideran 200 Pt/Co

B1: La normativa de Tailandia considera que no debe haber presencia

B2: La normativa de Tailandia considera que no debe haber presencia

ANALISIS O SUSTENTO DE PROPUESTAS NACIONAL

A1: El estándar establecido es de 15 Pt/Co tomando en cuenta la referencia de la Normativa de Honduras.

A2: El estándar establecido es de 100 Pt/Co tomando en cuenta la referencia de la CEE para Aguas superficiales destinadas a la producción de agua potable

A3: El estándar establecido es de 200 Pt/Co tomando en cuenta la referencia de la CEE para Aguas superficiales destinadas a la producción de agua potable

B1: Debe estar ausente, tomado de la referencia la normativa de Tailandia

B2: Debe estar ausente, tomado de la referencia la normativa de Tailandia

Bibliografía:

- QUÍMICA para Ingeniería Ambiental, Clair N. Sawyer, Perry L. McCarty, Gene F. Parkin 2000
- APHA, AWWA, WPCF. *Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales*. 1992

DIGESA

GESTA AGUA

GESTA AGUA
Grupo de Estudio Técnico Ambiental

Parámetro a Evaluar:

ORGANOLÉPTICO

OLOR

FUENTE

En su forma pura, el agua no produce sensaciones olfativas. El olor en el agua puede utilizarse de manera subjetiva para describir cualitativamente su calidad, estado, procedencia o contenido. Aun cuando esta propiedad pueda tener un amplio espectro de posibilidades, para propósitos de calidad de aguas existen ciertos aromas característicos que tipifican algunas fuentes u orígenes, más o menos bien definidos. Además de estos aromas típicos, existen otras fragancias que tipifican un origen en particular, pero que son menos frecuentes en los estudios de calidad de aguas. Así por ejemplo, las aguas residuales de industrias vinícolas, de industrias cerveceras, de industrias lecheras y de empresas relacionadas con la explotación o procesamiento del petróleo, tienen olores distintivos que son fácil y rápidamente perceptibles y que deben registrarse en las libretas de campo.

Tipo de Olor	Tipo de Agua
Inodoro:	Típico de aguas dulces y frescas
Olor metálico:	Típico de aguas subterráneas
Olor a Sulfuro:	Típico de ARD, de MO, y en general, de sistemas anaeróbicos
Olor vegetal:	Típico de aguas poco profundas, de humedales y estuarios.
Olor Pírico:	Típico de lixiviados de RS, y de aguas procedentes de PTARs
Olor a Pescado:	Típico de aguas oceánicas y de cultivos piscícolas

Estas sustancias pueden tener su origen en vertidos de residuos municipales e industriales, en factores naturales, como la descomposición de materiales vegetales, o en una actividad microbiana asociada.

CARACTERÍSTICAS

El olor se reconoce como factor de calidad que afecta a la aceptabilidad del agua potable (y de los alimentos preparados con ella) que pueda corromperse con la presencia de peces y otros organismos acuáticos y anular la estética de las aguas de instalaciones de recreo.

Compuestos químicos presentes en el agua como los fenoles, diversos hidrocarburos, cloro, materias orgánicas en descomposición o esencias liberadas por diferentes algas u hongos pueden dar olores y sabores muy fuertes al agua, aunque estén en muy pequeñas concentraciones.

RIESGOS PARA LA SALUD

- Malestar, dolor de cabeza, mareos
- Alergias dependiendo del causante del olor

METODO DE ANALISIS

Este parámetro organoléptico se puede evaluar mediante percepciones sensoriales que se realizan directamente en campo pero en caso que se quiera confirmar y cuantificar se miden nuevamente en el laboratorio mediante técnicas estándares más precisas. La determinación del olor se hace con el límite umbral: dilución máxima de agua inolora para hacer susceptible su olor. No existe una concentración absoluta de olor umbral debido a la variación inherente a la capacidad olfatoria individual.

CONCENTRACIONES ESTABLECIDAS POR GUIAS INTERNACIONALES

A1: Considera ausente la Normativa de Tailandia

A2: No se encontraron normativas

A3: No se encontraron normativas

B1: Consideran ausente la Normativa de Tailandia y Brasil

B2: Consideran ausente la Normativa de Tailandia

DIGESA

GESTA AGUA

GESTA AGUA
Grupo de Estudio Técnico Ambiental

Parámetro a Evaluar:

ORGANOLÉPTICO

OLOR

ANALISIS O SUSTENTO DE PROPUESTAS NACIONAL

A1: Basada en la normativa de Tailandia se considera como ausente para este uso.

A2: No se aplica

A3: No se aplica

B1: Basándose en las normativas de Tailandia, Brasil se debe encontrar ausente

B2: Basándose en las normativas de Brasil se debe encontrar ausente.

Bibliografía:

- QUÍMICA para Ingeniería Ambiental, Clair N. Sawyer, Perry L. McCarty, Gene F. Parkin 2000
- APHA, AWWA, WPCF. *Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales*. 1992



***ANEXO N°8:
CALIFICACIONES – FICHA ESCALAR***



CARTILLA DE
ACEPTABILIDAD GENI

ID	Hora de inicio	Hora de finalización	id Panelista	Edad	Sexo	Codigo de muestra X1	Codigo de muestra X2	Codigo de muestra X3	Codigo de muestra X4	Codigo de muestra X5	Codigo de muestra X6	Codigo de muestra X7	Codigo de muestra X8	Codigo de muestra X9
1	10/31/20 22:35:22	10/31/20 22:42:32	Panelista a 3	55	Femenino	3AA	3BA	3CA	3C	3BE	3BF	3AC	3AD	3BG
2	10/31/20 22:42:35	10/31/20 22:47:26	Panelista a 1	27	Masculino	1AA	1BA	1CA	1A	1BE	1BF	1AC	1AD	1BG
3	10/31/20 22:47:28	10/31/20 22:50:33	Panelista a 3	30	Femenino	2AA	2BA	2CA	2A	2BE	2BF	2AC	2AD	2BG
4	10/31/20 22:50:35	10/31/20 22:55:11	Panelista a 4	40	Femenino	4AA	4BA	4CA	4D	4BE	4BF	4AC	4AD	4BG
5	10/31/20 22:55:13	10/31/20 22:58:27	Panelista a 5	26	Femenino	5AA	5BA	5CA	5F	5BE	5BF	5AC	5AD	5BG
6	11/1/20 19:37:38	11/1/20 19:48:58	Panelista a 6	36	Femenino	6AA	6BA	6CA	6C	6BE	6BF	6AC	6AD	6BG
7	11/1/20 19:49:13	11/1/20 19:53:13	Panelista a 7	31	Femenino	7AA	7BA	7CA	7C	7BE	7BF	7AC	7AD	7BG
8	11/1/20 19:53:37	11/1/20 19:56:40	Panelista a 8	33	Masculino	8AA	8BA	8CA	8C	8BE	8BF	8AC	8AD	8BG
9	11/1/20 19:56:43	11/1/20 20:01:03	Panelista a 9	44	Femenino	9AA	9BA	9CA	9C	9BE	9BF	9AC	9AD	9BG
10	11/1/20 20:01:06	11/1/20 20:05:10	Panelista a 10	25	Femenino	10AA	10BA	10CA	10C	10BE	10BF	10AC	10AD	10BG

X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9
AGRADABLE (4)	AGRADABLE (4)	ACEPTABLE (3)	AGRADABLE (4)	AGRADABLE (4)	MUY AGRADABLE (5)	MUY AGRADABLE (5)	AGRADABLE (4)	AGRADABLE (4)
AGRADABLE (4)	MUY AGRADABLE (5)	REGULAR (2)	AGRADABLE (4)	AGRADABLE (5)	MUY AGRADABLE (5)	MUY AGRADABLE (5)	AGRADABLE (4)	MUY AGRADABLE (5)
AGRADABLE (4)	AGRADABLE (4)	REGULAR (2)	MUY AGRADABLE (5)	AGRADABLE (4)	AGRADABLE (4)	MUY AGRADABLE (5)	AGRADABLE (4)	AGRADABLE (4)
MUY AGRADABLE (5)	AGRADABLE (4)	ACEPTABLE (3)	AGRADABLE (4)	AGRADABLE (4)	AGRADABLE (4)	MUY AGRADABLE (5)	AGRADABLE (4)	AGRADABLE (4)
AGRADABLE (4)	AGRADABLE (4)	ACEPTABLE (3)	AGRADABLE (4)	AGRADABLE (5)	MUY AGRADABLE (5)	MUY AGRADABLE (5)	MUY AGRADABLE (5)	AGRADABLE (4)
ACEPTABLE (3)	AGRADABLE (4)	ACEPTABLE (3)	AGRADABLE (4)	AGRADABLE (4)	ACEPTABLE (3)	AGRADABLE (4)	MUY AGRADABLE (5)	AGRADABLE (4)
AGRADABLE (4)	ACEPTABLE (3)	ACEPTABLE (3)	MUY AGRADABLE (5)	AGRADABLE (4)	MUY AGRADABLE (5)	MUY AGRADABLE (5)	MUY AGRADABLE (5)	AGRADABLE (4)
MUY AGRADABLE (5)	AGRADABLE (4)	REGULAR (2)	MUY AGRADABLE (5)	AGRADABLE (4)	MUY AGRADABLE (5)	MUY AGRADABLE (5)	AGRADABLE (4)	MUY AGRADABLE (5)
AGRADABLE (4)	AGRADABLE (4)	REGULAR (2)	MUY AGRADABLE (5)	AGRADABLE (5)	MUY AGRADABLE (5)	AGRADABLE (4)	AGRADABLE (4)	AGRADABLE (5)
AGRADABLE (4)	AGRADABLE (4)	ACEPTABLE (3)	AGRADABLE (4)	AGRADABLE (5)	AGRADABLE (4)	AGRADABLE (4)	AGRADABLE (4)	AGRADABLE (4)

X12	X22	X32	X42	X52	X62	X72	X82
ACEPTABLE (3)	ACEPTABLE (3)	ACEPTABLE (3)	MUY BUENO (5)	BUENO (4)	MUY BUENO (5)	MUY BUENO (5)	BUENO (4)
BUENO (4)	ACEPTABLE (3)	REGULAR (2)	MUY BUENO (5)	BUENO (4)	MUY BUENO (5)	BUENO (4)	BUENO (4)
ACEPTABLE (3)	REGULAR (2)	REGULAR (2)	MUY BUENO (5)	BUENO (4)	BUENO (4)	MUY BUENO (5)	BUENO (4)
ACEPTABLE (3)	REGULAR (2)	ACEPTABLE (3)	BUENO (4)	BUENO (4)	BUENO (4)	MUY BUENO (5)	BUENO (4)
REGULAR (2)	ACEPTABLE (3)	ACEPTABLE (3)	BUENO (4)	MUY BUENO (5)	MUY BUENO (5)	MUY BUENO (5)	MUY BUENO (5)
REGULAR (2)	REGULAR (2)	ACEPTABLE (3)	MUY BUENO (5)	BUENO (4)	ACEPTABLE (3)	BUENO (4)	BUENO (4)
REGULAR (2)	ACEPTABLE (3)	ACEPTABLE (3)	MUY BUENO (5)	BUENO (4)	MUY BUENO (5)	MUY BUENO (5)	MUY BUENO (5)
REGULAR (2)	REGULAR (2)	REGULAR (2)	MUY BUENO (5)	BUENO (4)	MUY BUENO (5)	MUY BUENO (5)	BUENO (4)
ACEPTABLE (3)	REGULAR (2)	REGULAR (2)	MUY BUENO (5)	MUY BUENO (5)	MUY BUENO (5)	BUENO (4)	BUENO (4)
ACEPTABLE (3)	BUENO (4)	ACEPTABLE (3)	BUENO (4)	MUY BUENO (5)	BUENO (4)	BUENO (4)	BUENO (4)

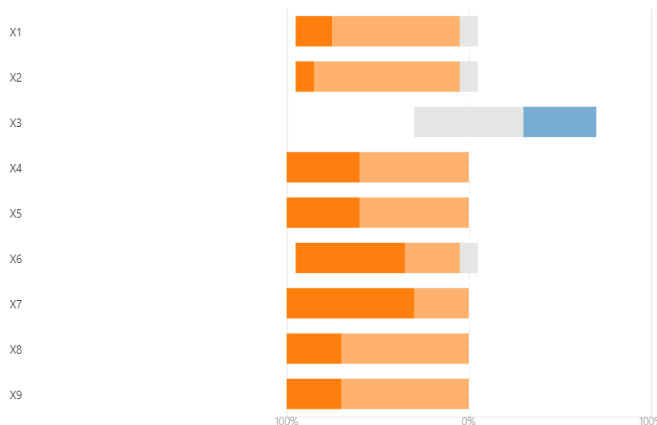
X92	X13	X23	X33	X43	X53	X63
BUENO (4)	BUENO (4)	Aceptable (3)	Regular (2)	BUENO (4)	BUENO (4)	Regular (2)
BUENO (4)	MUY BUENO (5)	Regular (2)	Aceptable (3)	MUY BUENO (5)	BUENO (4)	Regular (2)
BUENO (4)	BUENO (4)	Aceptable (3)	Regular (2)	MUY BUENO (5)	BUENO (4)	Regular (2)
BUENO (4)	MUY BUENO (5)	Aceptable (3)	Regular (2)	MUY BUENO (5)	BUENO (4)	Regular (2)
BUENO (4)	BUENO (4)	Regular (2)	Aceptable (3)	BUENO (4)	BUENO (4)	Regular (2)
BUENO (4)	BUENO (4)	Regular (2)	Aceptable (3)	MUY BUENO (5)	BUENO (4)	Aceptable (3)
BUENO (4)	BUENO (4)	Regular (2)	Regular (2)	MUY BUENO (5)	BUENO (4)	Regular (2)
BUENO (4)	BUENO (4)	Regular (2)	Regular (2)	Aceptable (3)	Aceptable (3)	Regular (2)
MUY BUENO (5)	BUENO (4)	Regular (2)	Regular (2)	BUENO (4)	BUENO (4)	Regular (2)
BUENO (4)	MUY BUENO (5)	Regular (2)	Regular (2)	Aceptable (3)	BUENO (4)	Regular (2)

X73	X83	X93	Si usted eligio 5 o 1 diga ¿Por qué?, para cada caso	Observaciones
MUY BUENO (5)	BUENO (4)	BUENO (4)	Olor aceptado por el punto de comparacion, optimo para la muestra	Ninguna
BUENO (4)	MUY BUENO (5)	BUENO (4)	Se encuentra alta relacion con la muestra optima	ninguna
BUENO (4)	BUENO (4)	BUENO (4)	Se identifica alta relacion con categorias 3 y 1	Ninguna
MUY BUENO (5)	BUENO (4)	BUENO (4)	las muestras con calificacion de 5 representan Gram parecido con el optimo blanco	El muestreo procedio con los parametros establecido, se deja evidencia de la videollamada con la ing. sofia quien nos capacito
MUY BUENO (5)	MUY BUENO (5)	MUY BUENO (5)	Altas coincidencias, muestras muy semejantes en Olor y color	Se procede con normalidad.
BUENO (4)	BUENO (4)	BUENO (4)	Se elige 5 debido a un aroma óptimo para el agua comparada con la muestra optimizada, el color ideal para la muestra de categoría 3 y la viscosidad excelente	Se desarrolla sin percances sobre la muestra
MUY BUENO (5)	BUENO (4)	BUENO (4)	Se consideran las calificaciones de 5 en olor, color y viscosidad, debido a un aroma óptimo para el agua comparada con la muestra optimizada, el color ideal para la muestra de categoría 3 y la viscosidad excelente	Ninguna al momento de la evaluacion
MUY BUENO (5)	MUY BUENO (5)	MUY BUENO (5)	Se elige 5 debido a un aroma óptimo para el agua comparada con la muestra optimizada, el color ideal para la muestra de categoría 3 y la viscosidad excelente	Ninguna durante la evaluacion de aguas
BUENO (4)	BUENO (4)	MUY BUENO (5)	Se elige en el aroma, color y viscosidad muy agradable considerando lo emitido por digesa, la NTP ISO 5492:2008 y tomando en cuenta blancos	Ninguna durante el analisis
BUENO (4)	BUENO (4)	MUY BUENO (5)	Se prefisa la puntuacion de 5 siguiendo los parametros organolepticos para muy agradable y muy buena	Ninguna durante el analisis

13. Olor

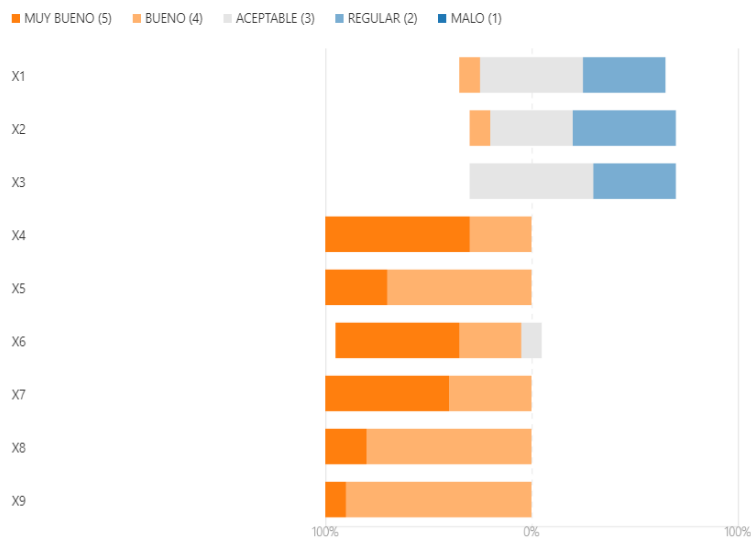
[Más detalles](#)

■ MUY AGRADABLE (5)
 ■ AGRADABLE (4)
 ■ ACEPTABLE (3)
 ■ REGULAR (2)
 ■ DESAGRADABLE (1)



14. Color

[Más detalles](#)



15. Densidad

[Más detalles](#)

