

UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA TIERRA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA



PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

**“Efecto del tiempo de fermentación sobre la capacidad antioxidante del raquis y fruto de
banano orito (*Musa acuminata* AA) para consumo en animales”**

AUTORES:

KARLA PATRICIA PICO POMA

KELY GISSELA CACHAGO TOAPANTA

DIRECTOR DE PROYECTO:

Dr. Willan Orlando Caicedo Quinche, PhD

PUYO – ECUADOR

2019-2020

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Nosotros, Karla Patricia Pico Poma y Kely Gissela Cachago Toapanta, declaramos que el presente Trabajo de Titulación **“Efecto del tiempo de fermentación sobre la capacidad antioxidante del raquis y fruto de banano orito (*Musa acuminata* AA) para consumo en animales”**, es de nuestra autoría y que los resultados obtenidos en el mismo son legítimos y originales. Los textos presentes en el documento provenientes de fuentes de autores se encuentran debidamente citados y referenciados de acuerdo a la NORMA APA, sexta edición.

Como autores del presente trabajo asumimos la responsabilidad legal y académica de los contenidos en este Trabajo de Titulación.

Karla Patricia Pico Poma
C.I. 1600843245

Kely Gissela Cachago Toapanta
C.I. 1501116154

CERTIFICADO DE CULMINACIÓN DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Por medio de presente, yo Dr C. Willan Orlando Caicedo Quinche, PhD con C.I. 1600446114 me alego que las jóvenes; Karla Patricia Pico Poma y Kely Gissela Cachago Toapanta, egresadas de la carrera Ingeniería Agropecuaria por la Universidad Estatal Amazónica, realizaron el proyecto de investigación y desarrollo titulado: **“Efecto del tiempo de fermentación sobre la capacidad antioxidante del raquis y fruto de banano orito (*Musa acuminata* AA) para consumo en animales”**, previo a la obtención del título de Ingeniera Agropecuaria bajo mi supervisión.

.....
Dr C. Willan Orlando Caicedo Quinche, PhD

DIRECTOR DE PROYECTO



UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA
SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND



Oficio No. 11-SAU-UEA-2020

Puyo, 10 de enero de 2020

Por medio del presente **CERTIFICO** que:

El Proyecto de Investigación correspondiente a las egresadas PICO POMA KARLA PATRICIA con C.I. 1600843245; y CACHAGO TOAPANTA KELY GISSELA con C.I. 1501116154 con el Tema: **“EFECTO DEL TIEMPO DE FERMENTACIÓN SOBRE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL RAQUIS Y FRUTO DE BANANO ORITO (*Musa acuminata AA*) PARA CONSUMO EN ANIMALES”**, de la carrera, Ingeniería Agropecuaria. Director de proyecto Dr C. Caicedo Quinche Willian Orlando, PhD, ha sido revisado mediante el sistema antiplagio URKUND, reportando una similitud del 4%, Informe generado con fecha 09 de enero de 2020 por parte del director, conforme archivo adjunto.

Particular que comunico a usted para los fines pertinentes

Atentamente,

Ing. Italo Marcello Lara Pilco MSc.
ADMINISTRADOR DEL SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND – UEA - .

**CERTIFICADO DE APROBACIÓN POR TRIBUNAL DE
SUSTENTACIÓN**

El proyecto de investigación y desarrollo, titulado: “**Efecto del tiempo de fermentación sobre la capacidad antioxidante del raquis y fruto de banano orito (*Musa acuminata* AA) para consumo en animales**”, fue aprobado por siguientes miembros del tribunal.

Dr. Manuel Quintana

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

MSc. Bélgica Yaguache

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. Roldan Torres

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida y fortaleza para seguir adelante y no rendirme a pesar de las dificultades que se presentaron en el transcurso de mi formación académica.

A mi Madre Paula Poma y a mi Padre Carlos Pico por su lucha, e infinito amor que me dio la fuerza para seguir adelante y completar esta etapa de mi vida ya que sin su esfuerzo y perseverancia no sería nada, LOS AMO A MIS VIEJITOS.

A mis queridas hermanas Josselyn y Leidy, por ser mi apoyo en los momentos difíciles, gracias por su confianza, amor y respeto las cuales me llenan de mucho orgullo.

A mi sobrina Valentina Pérez por llenarme de alegría con su llegada e inspirarme para lograr mis objetivos

Al Dr. Willan Caicedo Quinche, PhD, por brindarme la oportunidad de poder trabajar con él, depositando en mí su entera confianza para la creación para la creación de este proyecto, su ayuda fue una guía fundamental en el desarrollo del mismo.

A mi perro Doky, por ser parte de mi vida, gracias por tu infinito amor, lealtad y principalmente por ser mi inspiración para ayudar a los que no tienen voz.

Karla Pico

DEDICATORIA

A Dios, primeramente, por la vida, la salud y por haberme permitido llegar hasta este punto para lograr mis objetivos, además por su infinito amor.

A mis dos grandes amores, mis padres Javier & María por haberme inculcado buenos valores y por su apoyo incondicional que siempre me han brindado en todo momento, por sus consejos, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien.

A mis hermanas Adaliz, Lady y Meylin a quienes les debo muchas cosas, quienes siempre han estado conmigo en la buenas y en las malas, las cuales me llenan de mucho orgullo.

A mi cuñado Oscar por ser una excelente persona y apoyarme en mi formación profesional.

A mis abuelitos por su gran cariño que siempre me han brindado Angelina, Elias, Teresa y Abelardo por estar siempre en los momentos importantes de mi vida, por ser el ejemplo para salir adelante y por los consejos que han sido de gran ayuda para mi vida y crecimiento.

Kely Cachago

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto del tiempo de fermentación en estado sólida sobre la capacidad antioxidante en raquis y fruto de banano orito en diferentes tiempos de conservación (0, 1, 4, 8, 15 y 30 días), para ello se determinó: el pH en estado fresco, el contenido de polifenoles por el método FOLIN (Folin-Ciocalteu) y la capacidad antioxidante por los métodos FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power) y ABTS ácido 2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin - 6 - sulfónico), después del secado de muestras, estas determinaciones se realizaron por triplicado. Para este estudio se utilizó un diseño completamente aleatorizado (DCA), empleando la técnica de ANOVA y para la comparación de medias se aplicó la prueba de Duncan con ($p < 0,05$). El menor valor de pH ($p < 0,05$) se registró en el día 15, en el raquis (3,89) y en el fruto de banano orito (3,94). Con respecto al contenido de polifenoles, en el día 30, se obtuvo la mayor concentración ($p < 0,05$); en raquis ($323361,91 \mu\text{g}^{-1} \text{MS}$) y en el fruto de banano orito ($358128,57 \mu\text{g}^{-1} \text{MS}$). En cuanto a la mayor actividad antioxidante con el método de ABTS, se presentó en el día 0 y 8 en el ensilado de raquis y en el día 8 con el ensilado de fruta de banano orito, en cambio, con el método FRAP, se obtuvo mayor actividad antioxidante en el día 30 para el raquis y en el día 15 en el ensilado fruto de banano orito. En conclusión, el procesamiento de raquis y fruto de banano orito por fermentación en estado sólido, constituye una alternativa para mejorar el contenido de polifenoles y actividad antioxidante.

Palabras claves: Antioxidantes, banano orito, fermentación en estado sólido, polifenoles, raquis.

ABSTRAC

The objective of this study was to evaluate the effect of solid state fermentation time on the antioxidant capacity in rachis and fruit of banana orito at different conservation times (0, 1, 4, 8, 15 and 30 days), for this purpose determined: the pH in the fresh state, the polyphenol content by the FOLIN method (Folin-Ciocalteu) and the antioxidant capacity by the FRAP (Ferric Reducing / Antioxidant Power) and ABTS acid 2.2 azinobis (3-ethylbenzothiazolin - 6 - sulfonic acid), after drying samples, these determinations were made in triplicate. For this study, a completely randomized design (DCA) was used, using the ANOVA technique and Duncan test was applied with the comparison of means ($p < 0.05$). The lowest pH value ($p < 0.05$) was recorded on day 15, in the rachis (3.89) and in the fruit orito banana (3.94). With respect to the polyphenol content, on day 30, the highest concentration was obtained ($p < 0.05$); in rachis (323361.91 μg^{-1} MS) and in the fruit of orito banana (358128.57 μg^{-1} MS). As for the greater antioxidant activity with the ABTS method, it was presented on day 0 and 8 in the spine silage and on day 8 with the orito banana fruit silage, instead, with the FRAP method, it was obtained greater antioxidant activity on day 30 for the spine and on day 15 on the silage fruit of orito banana. In conclusion, the processing of rachis and fruit of banana orito by fermentation in solid state, constitutes an alternative to improve the content of polyphenols and antioxidant activity.

Keywords: Antioxidants, orito banana, solid state fermentation, polyphenols, rachis.

TABLA DE CONTENIDOS

CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. JUSTIFICACIÓN.....	2
1.2. PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN.....	3
1.3. FORMULACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	3
1.4. OBJETIVOS.....	4
1.4.1. GENERAL.....	4
1.4.2. ESPECÍFICOS.....	4
CAPÍTULO II.....	5
2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	5
2.1. Banano orito (<i>Musa acuminata</i> AA).....	5
2.1.1. Clasificación taxonómica.....	5
2.2. Fermentaciones.....	5
2.2.1. Fermentación sólida FES.....	6
2.2.1.1. Fermentación con bacterias ácido lácticas.....	6
2.2.1.2. Bacterias ácido lácticas.....	6
2.2.2. Metabolitos secundarios.....	7
2.2.2.1. Compuestos fenólicos.....	7
2.3. Antioxidantes.....	7
2.3.1. Efecto de la fermentación sobre la actividad antioxidante.....	8
2.3.2. Beneficios de los antioxidantes.....	8
2.4. Oxidación.....	8
2.5. Radicales Libres.....	9
2.6. Estrés oxidativo.....	9
2.6.1. Mecanismos protectores ante el estrés oxidativo.....	9
2.7. Efecto de los antioxidantes sobre el desempeño productivo y salud animal.....	10
2.7.1. Efecto de los antioxidantes en la digestibilidad de nutrientes y síntesis de nitrógeno microbiano en rumiantes.....	10
CAPÍTULO III.....	12
3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	12
3.1. Localización.....	12

3.2. Tipo de investigación	12
3.3. Métodos de la investigación	12
3.3.1. Formulación de los ensilados	12
3.3.2. Manejo del experimento	13
3.3.2.1. Medición del pH	13
3.3.2.2. Determinación de polifenoles a través del método FOLIN (Folin-Ciocalteu)	13
3.3.2.3. Determinación de la actividad antioxidante mediante el método ABTS ácido 2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin - 6 – sulfónico)	14
3.3.2.4. Determinación de la actividad antioxidante mediante el método FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power)	16
3.3.4. Modelo matemático	17
3.3.5. Factores de estudio	17
CAPÍTULO IV	18
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
CAPÍTULO V	23
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	23
5.1. Conclusiones	23
5.2. Recomendaciones	23
CAPÍTULO VI	24
6. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	¡Error! Marcador no definido.
CAPÍTULO VII	28
7. ANEXOS	28

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica del fruto de banano orito	5
Tabla 2. Composición química de las materias primas (% Base seca).....	12
Tabla 3. Formulación de los ensilados	13

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Dinámica del pH en ensilaje de raquis y fruta de banano orito en diferentes tiempos de conservación.	18
Figura 2. Contenido de fenoles totales en ensilados de raquis y fruto de banano orito en los diferentes tiempos de conservación.	19
Figura 3. Actividad antioxidante en raquis y fruto de banano orito a diferentes tiempos de conservación, por el método de ABTS. 20	
Figura 4. Actividad antioxidante en ensilados de raquis y fruto de banano orito a diferentes tiempos de conservación, por el método de FRAP.	22

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

En el Ecuador existe una amplia gama de residuos agrícolas que no son aprovechados de forma eficiente, en efecto generadas en las cosechas. Investigaciones realizadas han determinado que las plantas poseen un alto contenido de nutrientes específicamente proteínas, lípidos, fibra y compuestos con capacidad antioxidante, así como compuestos fitoquímicos con actividad contra radicales libres (Blasco-López y Gómez-Montaña, 2014). Desde el punto de vista fitoquímico las plantas poseen: taninos, lignanos, estilbenos, cumarinas, quinonas, xantonas, ácidos fenólicos, flavones, flavonoles, catequinas, antocianinas y proantocianinas (Rodríguez-Aguirre, Andrade-Barreiro y Díaz-López, 2015).

Se sabe que el banano es una excelente fuente de carbohidratos, fibras, vitamina B6, vitamina C, vitamina E, β -carotenos y minerales (Lal *et al.*, 2017). Estudios realizados demuestran que su pulpa, así como su cáscara contienen varios compuestos antioxidantes como la galocatequina, alcaloides, flavonoides, taninos, compuestos fenólicos y dopamina (Blasco-López y Gómez-Montaña, 2014). Sin embargo, el contenido de taninos en la cáscara inhabilitan la fermentación microbiana y absorción de nutrientes, es por ello que autores recomiendan la cocción y otros procesos; entre ellos, la fermentación en estado sólido con microorganismos benéficos, como las bacterias ácido lácticas (Garcés-Molina, 2004).

En cuanto a los procesos fermentativos son una alternativa para mejorar la composición química de algunos productos agrícolas y obtener nuevas opciones para la alimentación animal (Brea-Maure *et al.*, 2015). La fermentación con bacterias ácido lácticas (BAL), es uno de los procesos importantes para la obtención de compuestos fenólicos; puesto que, en un estudio realizado en la pulpa de café fermentada, se obtuvieron importantes incrementos de compuestos fenólicos, gracias a la presencia de la cepa *Lactobacillus casei* (López *et al.*, 2013).

Los antioxidantes son moléculas que inhiben o reducen la oxidación de otras moléculas, son ampliamente utilizados en los suplementos dietéticos, mientras que la actividad antioxidante es la capacidad total de antioxidantes para la eliminación de los radicales libres en la célula y en los alimentos (Hur *et al.*, 2014). Por lo tanto, son beneficiosos en la prevención de enfermedades

tales como: cardiovasculares, circulatorias, cancerígenas y neurológicas. Además, poseen actividades anti-inflamatorias, antialérgica, antitrombótica, antimicrobiana y antineoplásica (Kuskoski *et al.*, 2005).

Se ha demostrado que las vitaminas A, E y C y los carotenoides (precursores de la vitamina A) tienen la capacidad de proteger las células de la oxidación de radicales libres, así como también reducir los efectos perjudiciales de los eicosanoides (prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos), y para mejorar la respuesta inmune humoral y celular al desafío de la enfermedad (Campos-Granados, 2015).

1.1. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad existe una amplia variedad de recursos agrícolas que son desechados y no son utilizados de manera eficiente, muchos de estos residuos contienen gran cantidad de nutrientes y metabolitos secundarios que pueden ser aprovechados para elaborar alimentos para el consumo animal, dentro de estos productos están el raquis y fruto de banano orito.

El raquis y fruto banano orito son una fuente potencial de compuestos fenólicos que tienen capacidad antioxidante. Se sabe que su pulpa, así como su cáscara contienen varios antioxidantes como: la galocatequina, dopamina, vitaminas (A, B, C y E), β -caroteno, los cuales retardan o inhiben la oxidación, de tal manera que protegen las células del daño que causan los radicales libres, ofreciendo una acción protectora al organismo (Sulaiman *et al.*, 2011).

El banano verde de rechazo puede ser aprovechado en la alimentación animal, si se incrementa su contenido de proteínas disponible y se disminuye el contenido de taninos, ya que el banano posee un bajo contenido en fibra y proteína y un alto contenido en taninos. El proceso de ensilado disminuye los compuestos de taninos (Faubla-Zambrano y Ponce-Mera, 2016)

La actividad antioxidante de los productos naturales ha sido ampliamente estudiada en los últimos años, tanto en modelos *in vitro* como *in vivo* y se ha demostrado sus importantes propiedades en la eliminación de radicales libres. En esta actividad farmacológica intervienen una variedad de procesos bioquímicos y ralentiza la progresión de enfermedades graves de la civilización, como: enfermedades cardiovasculares, cáncer, enfermedades inflamatorias o infecciones (Kukula-Koch, Koch *et al.*, 2016).

Los nutricionistas incluyen sistemáticamente antioxidantes en las formulaciones con destino a la alimentación animal con el fin de prevenir las alteraciones oxidativas de las grasas, vitaminas liposolubles y pigmentos. La adición de estas sustancias se hace también directamente en determinadas materias primas como las propias grasas, harinas de pescado, etc (nutriNews, 2019).

Con su empleo se intenta evitar o retardar situaciones oxidativas que degradan el alimento, instauran problemas organolépticos, producen grandes pérdidas comerciales y pueden dar lugar a secuelas toxicológicas de enorme importancia. Por lo tanto, esta investigación se realiza con la finalidad de conocer la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en ensilados sólidos de raquis y el fruto del banano orito, a diferentes tiempos de conservación para así brindar una alternativa de alimentación animal aprovechando los residuos agrícolas que son desechados.

1.2. PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

En el Ecuador, la región amazónica se caracteriza por ser una zona que posee una buena producción agrícola para consumo humano, así mismo, se genera una amplia variedad de residuos, entre ellos la fruta de rechazo y raquis de banano orito (*Musa acuminata* AA), estos alimentos no son aprovechados de forma adecuada para la alimentación animal por la falta de conocimiento del aporte de nutrientes y antioxidantes. En este entorno, el ensilado puede constituir una alternativa para mejorar el contenido de nutrientes y metabolitos de naturaleza antioxidante para uso en la dieta de los animales.

1.3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cómo influye el tiempo de fermentación sobre la actividad antioxidante del raquis y fruto de banano orito de rechazo?

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. GENERAL

- ✓ Evaluar el efecto del tiempo de fermentación en estado sólido sobre la capacidad antioxidante de raquis y fruto de banano orito (*Musa acuminata* AA) para consumo en animales.

1.4.2. ESPECÍFICOS

- ✓ Determinar la influencia del pH sobre la variabilidad de los ensilados de raquis y fruto de banano orito en diferentes tiempos de conservación (0, 1, 4, 8, 15 y 30 días).
- ✓ Determinar la variabilidad de polifenoles y capacidad antioxidante en los ensilajes de raquis y fruto de banano orito en diferentes tiempos de conservación (0, 1, 4, 8, 15 y 30 días).

CAPÍTULO II

2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1. Banano orito (*Musa acuminata* AA)

El orito es uno de los cultivos más importantes en el mundo, en algunos lugares se encuentra al mismo nivel del arroz, trigo, maíz y cacao; además de ser considerado como producto básico en la alimentación y exportación. *Musa acuminata* conocido también como “baby banana” es una variante del banano común, con una longitud de 12 cm y un diámetro de 3 cm aproximadamente, con una importante fuente de carbohidratos, vitaminas B6, vitamina C, a más de fibra y potasio (Mantilla, 2015).

2.1.1. Clasificación taxonómica

Cheesman (1948), señala la siguiente clasificación taxonómica del banano orito, tabla 1:

Tabla 1. Clasificación taxonómica del fruto de banano orito

Taxonomía	
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Orden	Zingiberales
Familia	Musaceae
Genero	Musa
Especie	Acuminata

2.2. Fermentaciones

La fermentación es un proceso catabólico de oxidación de sustancias orgánicas para producir otros compuestos orgánicos y energía. Los procesos de fermentación son realizados por levaduras y bacterias en ausencia de oxígeno (Puerta, 2010).

Los carbohidratos son los principales sustratos que se fermentan, pero algunas bacterias pueden fermentar otros compuestos como los ácidos orgánicos, aminoácidos, purinas y piridinas. Los azúcares que se fermentan con la glucosa, la fructosa, la maltosa, la sacarosa y la lactosa, los cuales se obtienen de la caña de azúcar, las melazas, los jugos de frutas, la remolacha y el suero de leche (Puerta, 2010).

2.2.1. Fermentación sólida FES

La fermentación en estado sólido (FES) consiste en hacer crecer un microorganismo sobre un sustrato, empleando una fuente de nitrógeno y sales mineralizadas (ricas en macro y micronutrientes), bajo ciertas condiciones de humedad, pH, aireación y temperatura. La FES no presenta agua libre en su estructura, aunque conlleva determinados requerimientos de humedad (Borrás-Sandoval y Torres-Vidales, 2016).

En los países en desarrollo ha llamado la “revolución ganadera”, la FES para la producción de enzimas fibrolíticas, utilizadas en la producción de alimentos para animales (Borrás-Sandoval y Torres-Vidales, 2016).

2.2.1.1. Fermentación con bacterias ácido lácticas

La fermentación con bacterias ácido lácticas (BAL), es un proceso de gran importancia para la obtención de compuestos fenólicos; puesto que, en un estudio realizado en la pulpa de café fermentada, se obtuvo un importante incremento de estos, utilizando la cepa *Lactobacillus casei* como se sabe los compuestos fenólicos son capaces de reducir los radicales libres (López *et al.*, 2013).

2.2.1.2. Bacterias ácido lácticas

Las bacterias ácido lácticas (BAL) están formadas por un amplio grupo de bacterias no esporuladas, Gram positivas, las cuales metabolizan un amplio rango de azúcares para producir principalmente ácido láctico; debido a esto han sido empleadas por siglos en la fermentación de una amplia variedad de productos lácteos, en donde hoy es bien conocido el poder de preservación de estas bacterias debido a su habilidad para producir metabolitos antimicrobianos incluyendo ácidos orgánicos y bacteriocinas. Por otra parte, son uno de los grupos de

microorganismos menos estudiados para la obtención de compuestos fenólicos mediante la fermentación en estado sólido son las bacterias ácido lácticas (Ormaza , Díaz y Rojano, 2018).

2.2.2. Metabolitos secundarios

Las frutas y hortalizas son alimentos que aportan metabolitos secundarios de potencial antioxidante, como carotenos, licopenos, flavonoides, sustancias aliláceas, entre otros, los cuales benefician la buena salud de quienes los consumen (Márquez, Otero, Rojano y Osorio, 2014).

El banano es una excelente fuente de carbohidratos, fibras, vitamina B6, vitamina C, vitamina E y β -carotenos (Lal *et al.*, 2017). Se sabe también que su pulpa así como su cáscara contienen varios compuestos antioxidantes como la galocatequina, alcaloides, flavonoides, taninos, compuestos fenólicos y dopamina (Blasco-López y Gómez-Montaño, 2014).

2.2.2.1. Compuestos fenólicos

Son moléculas que poseen uno o más anillos aromáticos con uno o más grupos hidroxilos, los cuales pueden activarse contra distintos agentes patógenos (virus, bacterias y hongos) gracias a la participación de los ácidos fenólicos, por otra parte están los flavonoides que constituyen otro grupo de compuestos fenólicos los cuales cumplen con funciones biológicas como: la actividad antibacteriana, sinergia contra antibióticos y la supresión de la virulencia bacteriana (Guil-Guerrero *et al.*, 2016).

2.3. Antioxidantes

Los antioxidantes son moléculas que inhiben o reducen la oxidación de otras moléculas, son ampliamente utilizados en los suplementos dietéticos, mientras que la actividad antioxidante es la capacidad total de antioxidantes para la eliminación de los radicales libres en la célula y en los alimentos (Hur *et al.*, 2014).

2.3.1. Efecto de la fermentación sobre la actividad antioxidante

Zapata, Bustamante, Tamay y Benjamín (2013) manifiestan, que el efecto de fermentación en clones de cacao presenta cambios positivos y negativos en los contenidos de los diversos metabolitos secundarios, en dependencia de la variedad; el incremento de polifenoles durante el proceso de fermentación se puede dar por la formación de proantocianidina (tanino) y la pérdida de fenoles puede atribuirse a la difusión de los polifenoles fuera de los cotiledones durante la fermentación, asimismo puede ser por el acomplejamiento con proteínas, polisacáridos y alcaloides en el cacao.

La mejora de la actividad antioxidante por fermentación se debe principalmente a un aumento en compuestos fenólicos y flavonoides vía hidrólisis microbiana. Por otra parte, la fermentación induce la descomposición estructural de las paredes celulares de la planta, que conduce a la liberación o síntesis de diversos compuestos antioxidantes. Estos compuestos antioxidantes pueden donar átomos de hidrógeno o radicales libres de barrido, y evitar la oxidación de los lípidos (Hur *et al.*, 2014).

2.3.2. Beneficios de los antioxidantes

Se ha demostrado que las vitaminas A, E y C y los carotenoides (precursores de la vitamina A) tienen la capacidad de proteger las células de la oxidación de radicales libres, así como también reducir los efectos perjudiciales de los eicosanoides (prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos), y para mejorar la respuesta inmune humoral y celular al desafío de la enfermedad (Campos-Granados, 2015).

2.4. Oxidación

La oxidación es principal para la vida puesto que participa en los procesos de obtención de energía celular. Sin embargo, cuando existe un exceso de oxidación aparece el estrés oxidativo que es una realidad compleja en todos los niveles biológicos que no se pueden medir ni definir con un solo parámetro. Hay una multitud de enfermedades que se han relacionado con el estrés oxidativo y la generación de radicales libres. Por esto se están llevando a cabo las dietas

enriquecidas con antioxidantes tratando de disminuir el deterioro funcional orgánico por el exceso de estrés oxidativo (Abigail, 2011).

2.5. Radicales Libres

Los radicales libres (RL) pueden ser una molécula, un átomo o ion, que poseen un electrón desapareado en su orbital más externo que los hace reaccionar con otras moléculas orgánicas en procesos de óxido-reducción. Los RL debido a su electrón desapareado, son más reactivos que los no-radicales, y entre los diferentes radicales varían ampliamente su reactividad. La forma más frecuente en que se forman los radicales libres es por la adición de un electrón a una molécula estable, habitualmente como resultado de la reacción entre metales de transición como el hierro o el cobre y diversas especies de oxígeno como el peróxido de hidrógeno e incluso el oxígeno molecular (Zubiri Apeleo, 2017).

2.6. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo se define como un desequilibrio entre la producción y eliminación de especies reactivas y tiene como consecuencia un daño oxidativo a macromoléculas. Por ello, el estrés oxidativo está en la base de numerosas enfermedades como el cáncer, la artritis reumatoide y enfermedades neurodegenerativas (Parkinson y Alzheimer) (Chaitanya *et al.*, 2010).

En los últimos años se han realizado una serie de estudios donde han determinado que el estrés oxidativo es el causante de un trastorno primario, el cual se relaciona con la patogenia de ciertas enfermedades como es la mastitis, edema de la ubre, déficit en la síntesis de hormonas esteroides en vacas, miopatía nutricional degenerativa en ovinos, en aves se ha asociado con el desarrollo de enfermedades como el síndrome ascítico en pollos de engorde, hígado graso en gallinas ponedoras, problemas de fertilidad, hipocalcemias (Córdova-Izquierdo, 2016).

2.6.1. Mecanismos protectores ante el estrés oxidativo

La función principal de estos mecanismos es mantener la homeostasis celular contrarrestando el exceso de ROS intracelular y su consecuente efecto prooxidante para la célula. Los

mecanismos endógenos de defensa antioxidante pueden agruparse en dos clases: mecanismos de defensa antioxidante no enzimáticos y enzimáticos (Batle Vidal , 2013).

Mecanismos de defensa enzimáticos son un conjunto de proteínas, si bien los alimentos no contribuyen a las enzimas, contribuyen a los microminerales requeridos para la biosíntesis de tales enzimas, su función es favorecer la remoción de radicales libres de especie pro oxidante, teniendo la participación de las enzimas peroxidas, catalasas y superóxido dismutasa (Díaz, Escobar y Pizarro, 2013).

Los mecanismos enzimáticos son un conjunto de moléculas que interactúan con los radicales libres, la mayor parte estas moléculas contribuyen a la defensa antioxidante y provienen por medio de la alimentación, además que tienen la función de defensa antioxidante en el organismo entre ellas está: la vitamina E (atocoferol), vitamina C (ácido ascórbico), β -caroteno (provitamina A), proteínas transportadoras de metales de transición y polifenoles (captadores de radicales libres) (Díaz, Escobar y Pizarro, 2013).

2.7. Efecto de los antioxidantes sobre el desempeño productivo y salud animal

La presencia de metabolitos secundarios como taninos en el banano, le atribuye efectos negativos en el consumo por parte de animales porcinos, debido a que estos influyen en procesos digestivos, ocasionando la inhibición de enzimas proteolíticas (Noles-Romero, 2018).

2.7.1. Efecto de los antioxidantes en la digestibilidad de nutrientes y síntesis de nitrógeno microbiano en rumiantes

La incorporación de antioxidantes en la dieta de vacas lecheras podría optimizar la digestibilidad de los carbohidratos totales, aumentar la digestibilidad tanto de la fibra ácido detergente como neutro detergente, y también se le asocia a un aumento de la conversión de nitrógeno microbiano a partir del nitrógeno de la dieta. Por otra parte, la suplementación con antioxidantes podría dar lugar a cambios en el metabolismo microbiano del rumen, resultando beneficiosos para la actividad celulolítica (Zubiri Apele, 2017).

Lee *et al.* (2006) suplementando la dieta con polifenoles de extracto de *Eucommia ulmoides* en cerdos, consiguen mejorar los rendimientos en el crecimiento y los parámetros de calidad de carne. Pudiendo ser debido a la fuente del polifenol, al tratarse de monogástricos.

2.7.2. Posibles efectos perjudiciales de los antioxidantes

Los pocos estudios realizados han determinado que los antioxidantes producidos en las plantas pueden ser benéficos y de la misma manera perjudiciales en la reproducción de los animales incluyendo la espermatogénesis, las funciones de semen, ciclos de celo, la ovulación, las funciones de ovario, endometrio, el desarrollo del embrión y el embarazo (Zhong y Zou, 2013).

CAPÍTULO III

3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización

La presente investigación se realizó en los Laboratorios de Microbiología y Bromatología de la Universidad Estatal Amazónica, campus principal ubicado en el km.2. ½ vía Puyo-Tena en la ciudad de Puyo, cantón y provincia de Pastaza.

3.2. Tipo de investigación

La investigación es experimental ya que se evaluó el efecto en el tiempo de fermentación en los días 0, 1, 4, 8, 15 y 30 en raquis y fruto de banano orito, para ello se midieron las variables: pH, contenido de polifenoles y actividad antioxidante en raquis y fruto de banano orito.

3.3. Métodos de la investigación

3.3.1. Formulación de los ensilados

Las materias primas (raquis, fruto de banano orito) se obtuvieron del mercado “Mariscal” en la ciudad de Puyo, las cuales se lavaron y trocearon con un molino martillo con diámetro de 2 cm, mientras que el suero de leche, semita, melaza, carbonato de calcio y sal mineral se adquirieron en el centro “Agropecuario Jaramillo” de la misma ciudad. La composición proximal de las materias primas, y las formulaciones de los ensilados se observan en las Tablas 2 y 3.

Tabla 2. Composición química de las materias primas (% Base seca)

Materias primas	PB	FB	Grasa	Ceniza	Energía	Humedad
Banano orito natural	4,27	5,47	3,82	3,51	-	-
Raquis natural	4,02	28,95	3,46	16,77	-	-
Suero de leche	0,90	-	0,5	8,6	-	-
Melaza	3,66	-	2,0	10,1	-	26,3
Carbonato de calcio	-	-	-	98,0	-	2,0
Sal mineral	99,0	-	-	-	-	1,0
Semita	15,1	9,8	7,2	5,0	-	12,3

Fuente: FEDNA, 2019

Tabla 3. Formulación de los ensilados

Materias primas	% Inclusión ensilado	% Inclusión ensilado
	raquis	fruto banano orito
Raquis	67%	-
Fruto del banano orito	-	67%
Suero de leche	10%	10%
Melaza	2%	2%
Carbonato de calcio	0,5%	0,5%
Sal mineral	0,5%	0,5%
Semita	20%	20%
Total	100%	100%

3.3.2. Manejo del experimento

Se trabajó con un total de 36 microsilos de (300 g), 18 microsilos a base de raquis y 18 de fruto de banano orito, y se conservaron en una incubadora marca MEMMERT modelo IN 110, a una temperatura de 26 °C, el pH se midió conforme se cumplía el tiempo de fermentación establecido (0, 1, 4, 8, 15 y 30 días), mientras que el contenido de polifenoles y actividad antioxidante se evaluó posterior al secado (estufa marca MEMMERT modelo SFE700) y molienda (molino marca THOMAS-Wiley a modelo 4) de muestras, las determinaciones se hicieron por triplicado.

3.3.2.1. Medición del pH

En la determinación de pH se utilizó un extracto acuoso conformado por una fracción de 25 g de ensilado y 30 ml de agua destilada, para esto se utilizó un pH metro marca ORION STAR modelo A215 (Cherney y Cherney, 2003).

3.3.2.2. Determinación de polifenoles a través del método FOLIN (Folin-Ciocalteu)

Se aplicó este método ya que es uno de los principales métodos para la cuantificación de compuestos fenólicos en extractos vegetales. Sin embargo, hay que tomar en cuenta que es igual que todos los métodos espectrofotométricos, por ende puede ser inespecífico e

interaccionarse con otras moléculas como azúcares, presentes en los extractos vegetales y por lo tanto los resultados se pueden alterar (Muñoz-Bernal *et al.*, 2017).

Primero se preparó el Folin tomando 40 µL de reactivo Folin-Ciocalteu en una dilución 1:1 con agua destilada, se colocó en un matraz aforado de 10 ml, se agitó y se dejó reposar, protegido de la luz por 10 minutos. Se añadió 500 µL de la solución de carbonato de sodio al 10%, luego se aforó a un volumen de 10 ml con agua destilada, se homogenizó la disolución agitando manualmente el matraz aforado, se mantuvo a la oscuridad a temperatura ambiente durante dos horas, y luego se midió las absorbancias a 765 nm contra el blanco (Rivas-Morales, Oranday-Cárdenas y Verde-Star, 2016).

Para la preparación de la muestra se tomó 40 µL de muestra a analizar, luego se añadió 500 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu (dilución 1:1 con agua destilada), posteriormente se colocó en un matraz aforado de 10 mL, se agito y se dejó reposar, protegido de la luz, durante 10 minutos, Se añadió 500 µL de la disolución de carbonato de sodio al 10% , se aforo a un volumen de 10 mL con agua destilada, se homogenizó la disolución agitando manualmente el matraz aforado, mantener en la oscuridad a temperatura ambiente durante 2 horas, se midió absorbancias a 765 nm contra el blanco de reactivos.

Los cálculos se realizaron empleando el modelo matemático de la curva de calibración de ácido gálico (mg ácido gálico /L)

$$C = \frac{A + 0.0312}{0,0778}$$

A = Valor de absorbancia de las muestras.

C= Concentración de polifenoles.

3.3.2.3. Determinación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante se determinó por el método ABTS y por el método FRAP debido a muchos que muchos autores han combinado los dos métodos para obtención de resultados similares (Pérez Jiménez, 2007).

Método ABTS ácido 2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin - 6 – sulfónico)

El método ABTS se caracteriza por la captación de radicales libres. Además, ABTS•+ es uno de los métodos más rápidos, originando resultados reproducibles y coherentes. Presenta importantes ventajas; muestra varios máximos de absorción y una buena solubilidad, permitiendo el ensayo de compuestos tanto de naturaleza lipofílica como hidrofílica (Kuskoski *et al.*, 2005).

El radical ABTS se generó a partir de su precursor el ácido 2,2-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS); es un compuesto de color verde-azulado, estable.

Métodos de generación del radical ABTS.

- Disolución de ABTS 7mM. Se disolvieron 0,0384 g de sal amónica cristalizada de ABTS en 10 ml de agua destilada.
- Disolución de persulfato de potasio 2,45 mM. Se disolvieron 0,0662 g del reactivo en 100 ml de agua destilada.
- Etanol al 96 % v/v.

Preparación radical ABTS, se mezcló en partes iguales la disolución de ABTS 7 mM y la de persulfato de potasio 2,45 mM. Se mantuvo en la oscuridad a temperatura ambiente durante 16 horas para la formación del radical. Se disolvió con etanol para obtener una absorbancia de 0,8730 (absorbancia inicial) a 730 nm.

Preparación de las muestras de ensayo. En la cubeta del espectrofotómetro se colocó 20 µL de las diferentes mezclas, diluidas 1:1000 v/v en metanol y se adicionó 3 ml de la disolución del radical ABTS. Se esperó 7 minutos hasta la estabilización de la absorbancia y se realizó la lectura a 730 nm (Re *et al.*, 1999).

Los cálculos se hicieron empleando el modelo matemático de la curva de calibración de TROLOX (patrón de antioxidantes):

$$C = \frac{A - 0,7252}{-0,1304}$$

A = Valor de absorbancia de las muestras.

C = Concentración de antioxidantes

3.3.2.4. Método FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power)

El método FRAP tiene como mecanismo principal la transferencia de electrones a diferencia de otros métodos donde se produce la captura de radicales libres, según esto el FRAP puede ser útil, en combinación con otros métodos, en la determinación de la capacidad antioxidante de productos que contengan distintos tipos de antioxidantes (Rivas-Morales, Oranday-Cárdenas y Verde-Star, 2016).

Además, este método se basa en la capacidad que tiene la sustancia antioxidante para reducir Fe^{3+} a Fe^{2+} . El complejo férrico: 2, 4, 6 – tripiridil-s-triazina (TPTZ) incoloro es reducido a complejo ferroso coloreado. Se empleó una curva de calibración confeccionada con patrón de TROLOX. El reactivo FRAP se elaboró de la siguiente manera:

Primero, se preparó el buffer de acetato 0,3 mM a pH 3,6, para lo cual se pesó 6,1 mg de acetato de sodio trihidratado, se disolvió en 200 mL de agua, se ajustó el pH con una disolución de ácido clorhídrico 40 mM y finalmente se aforó a 250 mL con agua destilada. Para preparar la disolución de 2, 4, 6-tripiridil-s-triazina (TPTZ), se pesó 31,2 mg y se disolvió en ácido clorhídrico 40 mM hasta aforar en 10 mL. Luego se hizo una disolución 20 mM de cloruro de hierro III, a partir de la sal hexahidratada, para lo cual se pesó 135,2 mg y se disolvió en agua destilada hasta aforar en 25 mL. Finalmente, cada disolución se mezcló en proporción 1:1:10 de TPTZ: cloruro de hierro III: buffer acetato para obtener el reactivo FRAP (Rivas-Morales, Oranday-Cárdenas y Verde-Star, 2016).

Las muestras se prepararon mediante dilución 1:1000 v/v con metanol y se analizó inmediatamente. Luego se colocó 40 μL de esta disolución de muestra en un matraz de 10 mL y se adicionó 5 mL de disolución de FRAP. Se aforó con agua destilada y se dejó reposar en una estufa a 37 °C por 30 minutos. Se registró las absorbancias a una longitud de onda de 593 nm (Rivas, Leos y Garcia, 2016).

Los cálculos se realizaron empleando el modelo matemático de la curva de calibración de TROLOX (patrón de antioxidantes):

$$C = \frac{A}{0,1879}$$

A = Valor de absorbancia de las muestras.

C = Concentración de antioxidante.

3.3.3. Diseño de la investigación y análisis estadístico

Para este estudio se empleó un diseño completamente aleatorizado (DCA), con 6 tratamientos (días). Para el procesamiento de datos se utilizó la técnica de ANOVA y para la comparación de media se analizó con la prueba de Duncan con ($p < 0,05$). Todos los datos se procesaron utilizando el sistema de SPSS versión 22 para Windows.

3.3.4. Modelo matemático

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + E_{ij}$$

μ : media general

τ_i : efecto del i-ésimo tratamiento

E_{ij} : error experimental en la unidad j del tratamiento i.

3.3.5. Factores de estudio

❖ Variables dependientes

- ✓ pH
- ✓ Contenido de polifenoles
- ✓ Actividad antioxidante

❖ Variables independientes

Días de fermentación (0, 1, 4, 8, 15 y 30 días).

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comportamiento del pH en ensilados de raquis y fruta de banano orito

En la Figura 1 se observa el comportamiento del pH en los ensilados de raquis y fruto de banano orito en diferentes tiempos de conservación (0, 1, 4, 8, 15 y 30 días). En el día 0 se obtuvo el mayor pH (5.54), el cual difirió significativamente ($p < 0.0001$) de los días (1, 4, 8, 15 y 30).

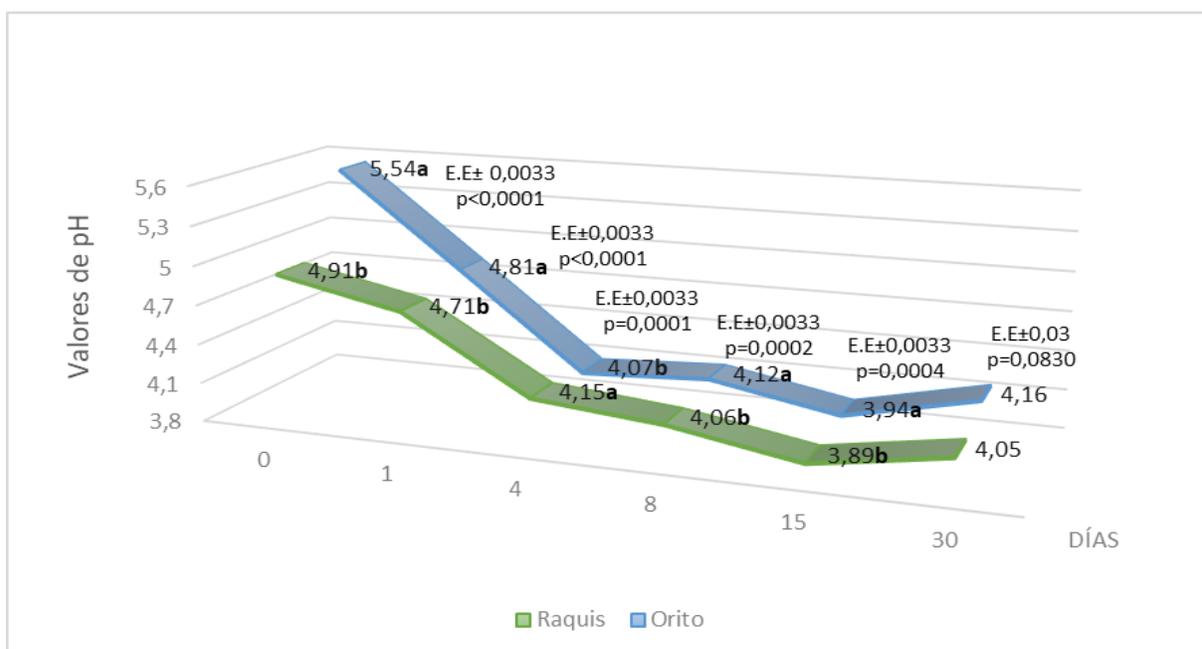


Figura 1. Dinámica del pH en ensilaje de raquis y fruta de banano orito en diferentes tiempos de conservación.

El pH es uno de los parámetros que afectan a la fermentación de alimentos, así como también está estrechamente relacionado con el crecimiento microbiano y los cambios estructurales fitoquímicos durante la fermentación (Hur *et al.*, 2014). En el día 0 se obtuvo un pH superior a 5 en el ensilado de fruta de banano orito, posterior a las 24 horas se consiguió estabilizarlos (1, 4, 8, 15 y 30 días), logrando valores de pH menores a 5. Borrás-Sandoval, Validaño-Cabrera y Rodríguez-Molano (2017) manifiestan que en las primeras horas de fermentación los valores del pH se incrementan debido a la respiración celular de la materia prima, después de las 24-48 horas el pH inicia un descenso debido a la actividad microbiana con predominio de las bacterias

ácido lácticas (BAL) y levaduras las cuales tienen la capacidad de producir ácido láctico para reducir el pH del medio (Álvarez, Méndez y Martínez-Fernández, 2015).

Contenido de polifenoles en raquis y fruta de banano orito

En la Figura 2 se muestra el contenido de polifenoles en los ensilados de raquis y fruta de banano orito en diferentes tiempos de conservación. De acuerdo con el valor ($p < 0.05$) existen diferencias altamente significativas. En el día 0, el fruto de banano orito tuvo mayor contenido de polifenoles; en los días 1, 4 y 8 existió un incremento apreciable en el contenido de polifenoles del raquis en comparación con el fruto de banano orito; sin embargo, en los días 15 y 30 se observa un aumento apreciable en la fruta de banano orito.

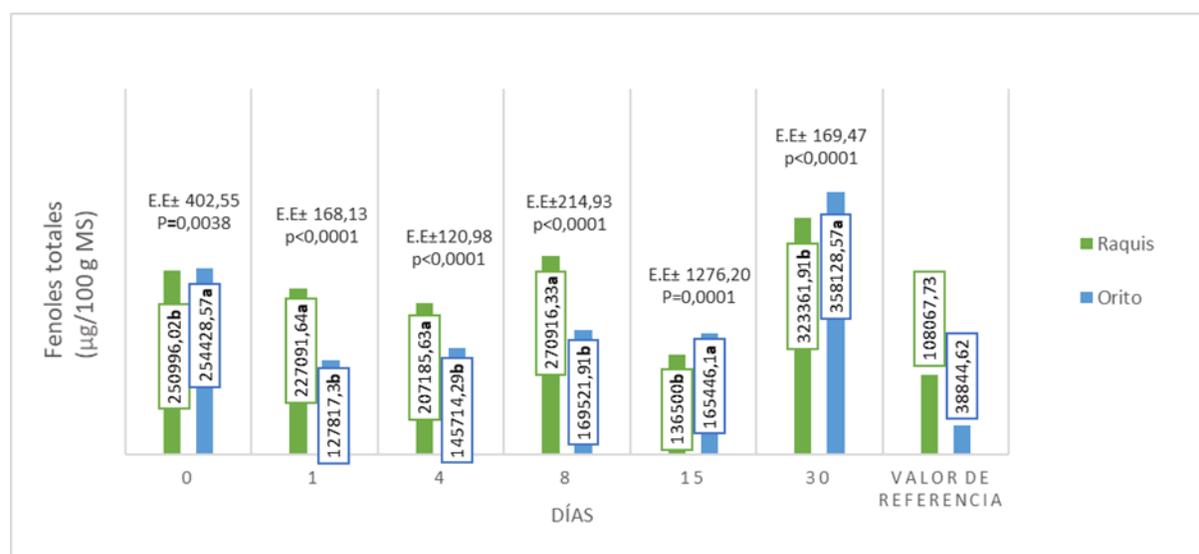


Figura 2. Contenido de polifenoles totales en ensilados de raquis y fruto de banano orito en los diferentes tiempos de conservación.

El mayor incremento en el contenido de polifenoles en el raquis y fruto de banano orito se relaciona probablemente con el bajo pH que presentaron los silos durante el estudio, con el cual se consigue recuperar los compuestos fenólicos (López *et al.*, 2013), logrando un valor máximo en el día 30 en raquis (323361,91 μg^{-1} MS) y en el fruto de banano orito (358128,57 μg^{-1} MS). Según un estudio realizado por López *et al.* (2013) referente al efecto del tiempo de almacenamiento de la pulpa de café sobre las propiedades antioxidantes, reportaron un incremento en el contenido de fenoles totales por efecto de fermentación. En este sentido, se

han empleado procesos de fermentación para aumentar el contenido de compuestos fenólicos bioactivos en las frutas y vegetales (Hur *et al.*, 2014).

Actividad antioxidante en raquis y fruta de banano orito con los métodos ABTS

En la Figura 3 se observa la actividad antioxidante en los ensilados de raquis y fruto de banano orito en diferentes tiempos de conservación. La actividad antioxidante en el raquis en los días 0, 1, 4 y 8 difirió significativamente ($p < 0.005$) de la fruta de banano orito. Sin embargo, el fruto de banano orito en los días 15 y 30 presentó mayor actividad antioxidante con respecto al raquis.

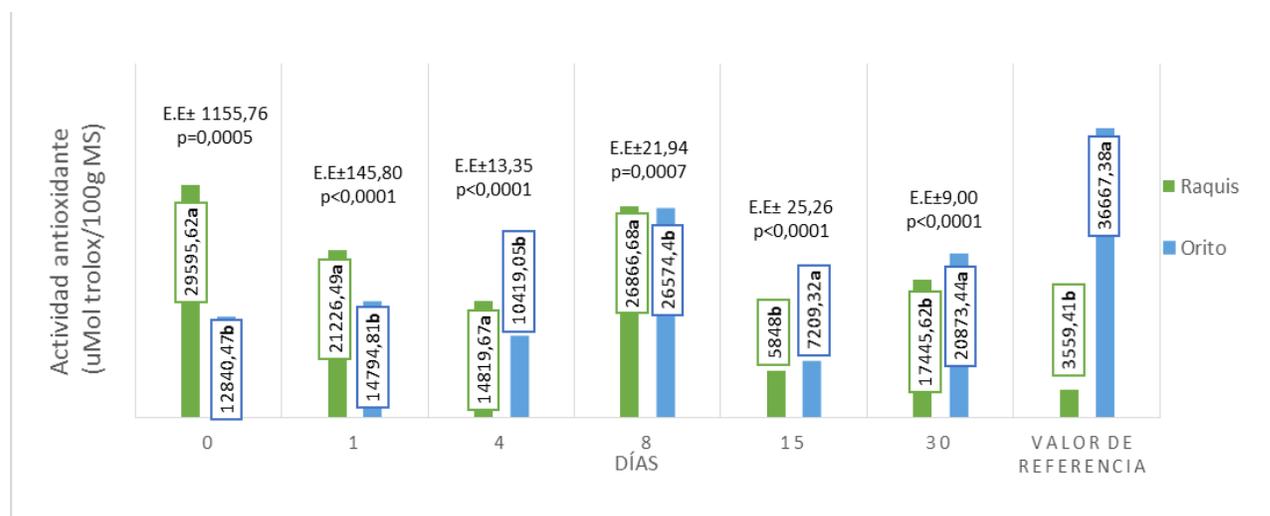


Figura 3. Actividad antioxidante en raquis y fruto de banano orito a diferentes tiempos de conservación, por el método de ABTS.

En cuanto a la mayor actividad antioxidante en el raquis corresponde al día 0, sin embargo, en el fruto de banano orito la mayor actividad antioxidante se presentó en el día 8.

Los resultados de mayor actividad antioxidante se presentaron para el raquis fermentado en relación al raquis sin fermentar, lo cual pudiera deberse a la producción de metabolitos antioxidantes por la acción de las bacterias ácido lácticas que metabolizan un amplio rango de azúcares para producir ácido láctico y su vez degradan compuestos antinutricionales indeseables para el consumo de los animales (López *et al.*, 2013).

Hur *et al.* (2014) manifiestan que el efecto de las bacterias ácido lácticas sobre la actividad antioxidante podría ser explicado por la liberación de compuestos fenólicos simples después de la hidrólisis ácida y enzimática de compuestos fenólicos polimerizados durante la fermentación.

López *et al.* (2013) indican que el uso de cepas de bacterias ácido lácticas (*Streptococcus*

termophilus y *Bifidobacterirum longum*) en el proceso de fermentación presentan un incremento de la actividad antioxidante de las materia prima. Otra posible explicación, se basa en que las propias bacterias ácido lácticas tienen actividad antioxidante ya que cuando los microorganismos están expuestos a especies reactivas de oxígeno y antioxidantes no enzimáticos evolucionan mecanismos para protegerse contra el daño oxidativo (Lee *et al.*, 2006).

Este método es aplicable al medio polar y apolar evaluando antioxidantes hidrofílicos y liposolubles incluyendo flavonoides, hidroxicinamatos, carotenoides y antioxidantes del plasma (Bohorquez, 2016), además el ABTS reacciona con cualquier compuesto aromático hidroxilado, independientemente de su potencial antioxidante real, con excepción de flavonoides carentes de grupos hidroxilo en el anillo B, ni con ácidos aromáticos que contengan un solo grupo hidroxilo (KuskoskiI, *et al.*, 2005). Entre los componentes polares del banano orito pudiesen destacarse la vitamina C y antocianinas y en los compuestos no polares, carotenoides (licopenos, carotenos) y vitamina E (Márquez *et al.*, 2014).

El efecto de las proteínas en la actividad antioxidante se debe a la presencia de aminoácidos como: histidina, tirosina, metionina, y cisteína que poseen actividad antioxidante por ello se podría explicar que el fruto de banano orito en el día 0 presento mayor actividad antioxidante (He *et al.*, 2012).

Actividad antioxidante en raquis y fruta de banano orito por el método FRAP

En la Figura 4 se muestra la actividad antioxidante en ensilados de raquis y fruta de banano en diferentes tiempos de conservación. De acuerdo con el valor ($p < 0.05$) existen diferencias altamente significativas en los diferentes tiempos de conservación. En los días 15 y 30 el banano orito presentó mayor actividad antioxidante. Sin embargo, en el día 30, el raquis presentó la mayor actividad antioxidante.



Figura 4. Actividad antioxidante en ensilados de raquis y fruto de banano orito a diferentes tiempos de conservación, por el método de FRAP.

En cuanto a la mayor actividad antioxidante en el raquis corresponde al día 30, sin embargo, en el fruto de banano orito la mayor actividad antioxidante se presentó en el día 15. La actividad antioxidante evaluada con este método fue mayor en el material ensilado respecto a la materia prima sin ensilar. Este comportamiento es similar a lo reportado por López *et al.* (2013) en la pulpa de café fermentado, debido al aporte de compuestos fenólicos pertenecientes al grupo de los ácidos hidroxicinámicos, melanoidinas y algunos compuestos volátiles del café (Ormaza, Díaz y Rojano, 2018). Los metabolitos de naturaleza antioxidante en el ensilado de raquis y fruta de banano orito se pudiera atribuir a la presencia de catequina, epicatequina, taninos y antocianinas (Morillas-Ruiz y Delgado-Alarcón, 2012).

De acuerdo a los valores obtenidos al final del proceso fermentativo día 30, a la actividad antioxidante de los ensilados de raquis y fruta de banano orito se pudiesen catalogar como antioxidantes de potente protección, ya que valores por encima de los 5000 $\mu\text{mol TROLOX}/100\text{g}$ de muestra, reciben esta clasificación (Ormaza, Díaz y Rojano, 2018), y se recomienda consumir diariamente de 3000 a 5000 $\mu\text{mol TROLOX}/100\text{g}$ de muestra (Rojano, Zapata y Cortes, 2012).

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

Se concluye que el valor del pH en el ensilado del banano orito en el día 0 presentó el mayor valor (5.54), teniendo un descenso significativo al día 4 con un pH de 4.07; siendo a partir del mismo día donde el valor de pH se estabilizó.

El valor del pH en el ensilado de raquis del banano orito al día 0, fue menor que el valor obtenido en el ensilado del fruto.

La mayor concentración de polifenoles se presentó en el día 30, en raquis ($323361,91 \mu\text{g}^{-1}$) y en el fruto de banano orito ($358128,57 \mu\text{g}^{-1}$ MS).

El ensayo ABTS presentó la mayor actividad antioxidante en el ensilaje de raquis en el día 0 y en el ensilaje del fruto en el día 8, mientras que en el día 15 se presentó la menor actividad antioxidante en ambos ensilados.

Según el método FRAP, se concluye que a menor tiempo de conservación se presenta mayor actividad antioxidante para el ensilaje de raquis, mientras que a mayor tiempo de conservación el fruto presenta mayor actividad antioxidante.

5.2. Recomendaciones

Se recomienda realizar procesos de fermentación para el aprovechamiento de residuos agrícolas y mejorar los contenidos de polifenoles y actividad antioxidante.

Cuantificar el contenido de metabolitos de naturaleza antioxidante en los ensilados.

Se recomienda utilizar varios métodos para la determinación de la actividad antioxidante, puesto que hay compuestos antioxidantes que no reaccionan con determinadas especies oxidantes. Además de comparar las metodologías del método FRAP y ABTS.

CAPÍTULO VI

6. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Abigail, R. M. (2011). Antioxidantes: la magia de lo natural. *Tlatemoani*, 5-6.
- Álvarez, S., Méndez, P., y Martínez-Fernández, A. (2015). Calidad fermentativa y nutritiva del ensilaje de subproductos de banano para cabras. *Journal of Applied Animal Research*, 43(4), 396-401. doi:<https://doi.org/10.1080/09712119.2014.978782>
- Batle Vidal, J. M. (2013). *Efectos del oxígeno hiperbárico sobre el daño oxidativo y los mecanismos antioxidantes en deportistas y su efecto regenerador en las lesiones de difícil curación*. Tesis doctoral, Palma de Mallorca.
- Blasco-López, G., y Gómez-Montaña, F. J. (2014). Propiedades funcionales del plátano (*Musa sp*). *Revista Médica de la Universidad Veracruzana*, 14(2), 22-26.
- Bohorquez , R. (2016). *Determinación de actividad antioxidante de extractos de hojas de Diplostephium phylloides (Kunth) Wedd*. Trabajo de grado , Universidad de ciencias aplicadas y ambientales U.D.C.A., Bogotá.
- Borrás-Sandoval , L. M., y Torres-Vidales, G. (2016). Producción de alimentos para animales a través de fermentación en estado sólido – FES. *ORINOQUIA*, 20(2), 47-54.
- Borrás-Sandoval, L. M., Valdaño-Cabrera, E. C., y Rodríguez-Molano, C. E. (2017). Preparado microbiano con actividad ácido láctica como acelerante biológico en los procesos de fermentación para alimento animal. *Revista Ciencia y Agricultura*, 14(1), 7-13.
- Brea-Maure, O., Iglesias, A. E., Ortiz-Milán, A., Motta-Ferreira, W., y Hechavarría-Riviaux, S. (2015). Efecto de la urea y del tiempo en la fermentación en estado sólido de la harina de frutos del árbol del pan (*Artocarpus altilis*). *Ciencia y Agricultura*, 12(2), 91-101.
- Campos-Granados, C. M. (2015). El impacto de los micronutrientes en la inmunidad de los animales. *Nutrición Animal Tropical*, 9(1), 1-23.
- Chaitanya, K. V., Pathan, A. A., Mazumdar, S. S., Chakravarthi, G. P., Parine, N., y Bobbarala, V. (2010). Role of oxidative stress in human health: an overview. *J Pharm Res*, 3, 1330-1333.
- Cheesman, E. (1948). Classification of the bananas. *Kew Bulletin*, 3(2), 145-153. doi:[10.2307/4119749](https://doi.org/10.2307/4119749)
- Cherney, J. H., y Cherney D, J. R. (2003). Assessing silage quality. En D. R. Buxton, R. E. Muck RE, y J. H. Harrison, *Silage science and technology* (págs. pp. 141-198). Wisconsin, USA: American Society of Agronomy.
- Córdova-Izquierdo, A. (2016). Uso de antioxidantes en la ganadería. *Revista Ganadero*, 41(4).

- Díaz, G., Escobar, W., y Pizarro, E. (2013). Estrés Oxidativo Cuando el equilibrio se pierde. *Revista Motricidad y Persona: serie de estudios*(13), 45-60.
- Faubla-Zambrano, Á. J., y Ponce-Mera, H. R. (2016). *Evaluación bromatológica y toxicológica de microorganismos específicos en la obtención del ensilaje de banano verde (Musa sapientum)*. Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Calceta.
- Garcés-Molina, A. M. (2004). Detoxificación de banano verde. *Revista Lasallista de Investigación*, 1(1), 48-55.
- Gomes Rebello, L. P., Mota Ramos, A., Becker Pertuzatti, P., Teixeira Barcia, M., Castillo Muñoz, N., y Hermosín Gutiérrez, I. (2014). Flour of banana (*Musa AAA*) peel as a source of antioxidant phenolic compounds. *Food Research International*, 55, 397–403. doi:doi:10.1016/j.foodres.2013.11.039
- Guil-Guerrero, J. L., Ramos, L., Moreno, C., Zuñiga-Paredes, J. C., Carlosama-Yepez, M., y Ruales, P. (2016). Plant-food by-products to improve farm-animal health. *Animal Feed Science and Technology*, 220, 121-135. doi:http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.anifeedsci.2016.07.016
- Guiracocha Freire, G., y Quiróz, J. (2003). *Guía para el manejo orgánico del banano orito*. Guayaquil: Guayaquil, EC: INIAP, Estación Experimental Boliche.
- He, R., Ju, X., Yuan, J., Wang, L., Girgih, A. T., y Aluko, R. E. (2012). Antioxidant activities of rapeseed peptides produced by solid state fermentation. *Food Research International*, 49(1), 432-438. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.08.023
- Hur, S. J., Lee, S. Y., Kim, Y. C., Choi, I., y Kim, G. B. (2014). Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. *Food chemistry*, 160, 346-356. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.112
- Kukula-Koch, W., Koch, W., Angelis, A., Halabalaki, M., y Aligiannis, N. (2016). Application of pH-zone refining hydrostatic countercurrent chromatography (hCCC) for the recovery of antioxidant phenolics and the isolation of alkaloids from Siberian barberry herb. *Food Chemistry*, 203, 394-401.
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., y Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology*, 25(4), 726-732. doi:http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612005000400016
- Lal, N., Sahu, N., Shiurkar, G., Kumar-Jayswal, D., y Chack, S. (2017). Banana: Awesome fruit crop for society (Review). *The Pharma Innovation Journal*, 6(7), 223-228.
- Lee, H. Y., Park, J. H., Seok, S. H., Baek, M. W., Kim, D. J., Lee, K. E., . . . Park, J. H. (2006). Human originated bacteria, *Lactobacillus rhamnosus* PL60, produce conjugated linoleic acid and show anti-obesity effects in diet-induced obese mice. *Biochimica et Biophysica*

Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids, 1761(7), 736-744.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2006.05.007>

- Lopéz, A., Prado-Barragán, A., Nerváez-Moorillón, G. V., Contreras, J. C., Rodríguez, R., y Aguilar, C. N. (2013). Incremento de la capacidad antioxidante de extractos de pulpa de café por fermentación láctica en medio sólido. *Journal of food*, 11(4), 359-365. doi:<https://doi.org/10.1080/19476337.2013.773563>
- Mantilla, J. (2015). *Manual de procedimientos para la manipulación, embalaje y envío de banano orito en el centro de acopio "JZ" S.A. del Cantón La Maná*. Universidad Regional Autónoma de los Andes. Obtenido de <http://dspace.uniandes.edu.ec/bitstream/123456789/1110/1/TUQADM001-2015.pdf>
- Márquez, C. J., Otero, C. M., Rojano, B. A., y Osorio, J. A. (2014). Actividad antioxidante y concentración de compuestos fenólicos del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* S.) en poscosecha. *Temas Agrarios*, 19(2), 173-184.
- Morillas-Ruiz, J. M., y Delgado-Alarcón, J. M. (2012). Nutritional analysis of vegetable food with different origins: Evaluation of antioxidant capacity and phenolic total compounds. *Nutrición clínica y dietética hospitalaria*, 32(2), 8-20.
- Muñoz-Bernal, Ó. A., Torres-Aguirre, G. A., Núñez-Gastélum, J. A., De la Rosa, L. A., García, J. R., Ayala-Zavala, F. J., y Álvarez-Parrilla, E. (2017). Nuevo acercamiento a la interacción del reactivo de Folin-Ciocalteu con azúcares durante la cuantificación de polifenoles totales. *TIP*, 20(2), 23-28. doi:<https://doi.org/10.1016/j.recqb.2017.04.003>
- Noles-Romero, T. L. (2018). *Evaluación de la capacidad antibacteriana de los taninos extraídos del banano verde (Mussa sp.), rechazo de las bananeras, frente a la bacteria Staphylococcus aureus ATCC: 12600*. Cuenca.
- nutriNews. (2019). Los antioxidantes en la nutrición animal. *nutricionanimal.info*, 1-2.
- Ormaza, A. M., Díaz, F. O., y Rojano, B. A. (2018). Efecto del Añejamiento del Café (*Coffea arabica* L. var. Castillo) sobre la Composición de Fenoles Totales, Flavonoides, Ácido Clorogénico y la Actividad Antioxidante. *Información tecnológica*, 29(3). doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642018000300187>
- Ortiz, J., Chungara, M., Ibieta, G., Alejo, I., Tejeda, L., Peralta, C., . . . Peñarrieta, J. M. (2019). Determinación de teobromina, catequina, capacidad antioxidante total y contenido fenólico total en muestras representativas de cacao Amazónico Boliviano y su comparación antes y después del proceso de fermentación. *Revista Boliviana de Química*, 36(1), 40-50. doi:10.34098/2078-3949.36.1.4
- Pérez Jiménez, J. (2007). *Metodología para la evaluación de ingredientes funcionales antioxidantes: efectos de fibra antioxidante de uva en status antioxidante y parámetros de riesgo cardiovascular en humanos*. Universidad Autónoma de Madrid, Departamento de química-Física. Obtenido de https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/1671/6494_perez_jimenez_jara.pdf

- Puerta, G. I. (2010). Fundamentos del proceso de fermentación en beneficio del café. doi:<http://hdl.handle.net/10778/345>
- Quintero, G. P. (2010). Fundamentos en proceso de fermentacion beneficioso para el cafe. *Federacion Nacional de cafeteros de Colombia*, 1.
- Re, R., Nicoletta, P., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., y Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology y Medicine*, 26(9-10), 1231-1237. doi:[https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rivas-Morales, C., Oranday-Cárdenas, M. A., y Verde-Star, M. J. (2016). *Actividad antioxidante y toxicidad. Investigación en plantas de importancia médica*. OmniaScience. Obtenido de <http://www.omniascience.com/monographs/index.php/monograficos/article/viewFile/33/237>
- Rodríguez-Aguirre, O. E., Andrade-Barreiro, W. A., y Díaz-López, F. E. (2015). Actividad antioxidante de extractos de hojas de *Bocconia frutescens* L. (Papaveraceae). *Revista de Tecnología*, 14(2), 21-36.
- Rojano, B., Zapata, K., y Cortes, F. (2012). Capacidad atrapadora de radicales libres de *Passiflora mollissima* (Kunth) L. H. Bailey (Curuba). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 17, 408-419.
- Sidhu, J., y Zafar, T. (2018). Bioactive compounds in banana fruits and their health benefits. *Food Quality and Safety*, 2(4), 183–188. doi:10.1093/fqsafe/fyy019
- Sulaiman, S. F., Yusof, N. A., Eldeen, I. M., Seow, E. M., Sajak, A. A., Supriatno, y Ooi, K. L. (2011). Correlation between total phenolic and mineral contents with antioxidant activity of eight Malaysian bananas (*Musa* sp.). *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(1), 1-10.
- Zapata Bustamante, S., Tamay, A., y Benjamín, A. (2013). Efecto de la fermentación sobre la actividad antioxidante de diferentes clones de cacao colombiano . *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 391-404.
- Zapata, K., Cortes, F. B., y Benjamín, A. R. (2013). Polifenoles y Actividad Antioxidante del Fruto de Guayaba. *Información Tecnológica* , 24(5), 103-112. doi:10.4067/S0718-07642013000500012
- Zhong, R. Z., y Zou, D. W. (2013). Oxidative Stress and Role of Natural Plant Derived Antioxidants in Animal Reproduction. 12(10).
- Zubiri Apeleo, E. D. (2017). *Antioxidantes naturales en la dieta de cordero para preservar las características físicas, químicas y sensoriales de su carne enriquecida en ácidos grasos omega 3*. Universidad Complutense de Madrid, España.

CAPÍTULO VII

7. ANEXOS

Anexo 1. Capacidad de antioxidante de polifenoles y taninos en diferentes variedades de banano

Table 4. Antioxidant capacity of polyphenols and tannins of unripe banana (*Musa sp.*) varieties.

Cuadro 4. Capacidad antioxidante de polifenoles y taninos de variedades de plátano (*Musa sp.*) no maduro.

Variety	EP (mg GAE g ⁻¹) (μ mol of Trolox eq g ⁻¹) [†]	CT (mg g ⁻¹) (μ mol of Trolox eq g ⁻¹) [†]	HT (mg GAE g ⁻¹) (μ mol of Trolox eq g ⁻¹) [†]
Macho	1.59 ± 0.23 a	34.08 ± 0.13 a	4.03 ± 0.03 a
	21.25 ± 0.16 a	39.32 ± 0.13 a	12.85 ± 0.33 a
Enano	0.70 ± 0.07 b	26.40 ± 1.31 b	5.71 ± 0.20 b
	8.85 ± 1.07 b	33.09 ± 0.57 b	13.14 ± 1.16 a
Morado	3.46 ± 0.07 c	44.65 ± 1.37 c	4.31 ± 0.23 a
	44.75 ± 0.36 c	57.87 ± 0.04 c	19.65 ± 0.64 b
Valery	0.97 ± 0.03 d	7.03 ± 0.16 d	3.96 ± 0.02 a
	14.41 ± 0.71 d	22.61 ± 1.11 d	13.05 ± 0.63 a

Mean of three replicates ± SD, dry basis. Values with different letters in a column are statistically different ($p \leq 0.05$). EP: extractable polyphenols; CT: condensed tannins; HT: hydrolysable tannins; GAE: Gallic acid equivalents. [†] Expressed in μ mol of Trolox equivalents g⁻¹. ♦ Media de tres réplicas ± DE, base seca. Valores con distintas letras en una columna son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$). PE: polifenoles extraíbles; TC: taninos condensados; TH: taninos hidrolizables; GAE: equivalentes de ácido gálico. [†] Expresado en μ mol de Trolox equivalentes g⁻¹.

(*Musa sp.*) (AGROCIENCIA, 2014).



Anexo 2. Preparación de ensilados de raquis y fruto de banano



Anexo 3. Incubación, secado y molienda de muestras.



Anexo 3. Medición de pH



Anexo 4. Determinación del contenido de polifenoles y actividad antioxidante (métodos FOLIN, ABTS Y FRAP).