

UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA TIERRA
CARRERA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



PROYECTO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO PREVIO A
LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:
INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

TEMA:

**“Evaluación de contenido antioxidante en una bebida fermentada
de pulpa de banano orito (*Musa acuminata* AA)”**

AUTORES:

Lidia Mariana Castillo Bustamante

Carla Marcela Merino Calapucha

DIRECTOR:

Dr. Manuel Lázaro Pérez Quintana, Ph. D.

PUYO - PASTAZA - ECUADOR

2020

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Nosotros, Carla Marcela Merino Calapucha con CI. 0604428128 y Lidia Mariana Castillo Bustamante con CI. 1600940975, certificamos que los criterios y opiniones que constan en el Proyecto de Investigación bajo el tema: “**Evaluación de contenido antioxidante en una bebida fermentada de pulpa de banano orito (*Musa acuminata* AA**”, son de nuestra autoría y exclusiva responsabilidad.

Carla Marcela Merino Calapucha

CI. 0604428128

Lidia Mariana Castillo Bustamante

CI. 1600940975

CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Por medio del presente, yo Manuel Pérez Quintana con CI: 1755190814 certifico que las egresadas Carla Marcela Merino Calapucha, Lidia Mariana Castillo Bustamante, realizaron el Proyecto de investigación titulado: “Evaluación de contenido antioxidante en una bebida fermentada de pulpa de banano orito (*Musa acuminata* AA” previo a la obtención del título de Ingeniería Agroindustrial bajo nuestra supervisión.

Dr. Manuel Pérez Quintana, PhD

C.I. 1755190814

CERTIFICADO DE APROBACIÓN POR TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

El tribunal de sustentación del Proyecto de Investigación titulado: “Evaluación de contenido antioxidante en una bebida fermentada de pulpa de banano orito (*Musa acuminata* AA” aprueban el proyecto.

**DR. LUIS RAMÓN
BRAVO SÁNCHEZ, PhD
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

**ING. JANETH PAULINA
ULLOA MOREJÓN, MSc
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

**ING. KETTY CECILIA
YÁNEZ NAVARRETE, MSc
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

AGRADECIMIENTO

A Dios, por darme la oportunidad de culminar con éxito mis estudios y permitirme finalizar satisfactoriamente este trabajo de investigación.

A la Universidad Estatal Amazónica, por permitirme realizar mi formación académica y a todos los docentes que me brindaron su apoyo, paciencia y conocimientos.

A mi Director de Proyecto Dr. Manuel Pérez Quintana, por su dedicada labor docente y en especial por su valiosa orientación y colaboración en el desarrollo de esta investigación.

A mi familia, que siempre me han dado su apoyo incondicional, por estar presentes en todos los momentos de mi vida y ser mi constante motivación.

A mi compañera Carla, por permitirme conformar este equipo de trabajo en el que juntas logramos superar dificultades para poder concluir de manera satisfactoria este proyecto. Gracias por tu amistad, comprensión y apoyo.

Finalmente, agradezco a todas las personas que colaboraron en el desarrollo de este proyecto de investigación.

Lidia Mariana Castillo Bustamante

DEDICATORIA

A mi querido papá, quien con su ejemplo y sus consejos me ha motivado a seguir adelante hasta conseguir mis sueños, por estar pendiente de mi bienestar y educación apoyándome en todo lo que me he propuesto.

A mi tío José, por ser una persona muy especial para mí, que siempre está dispuesto a escucharme y darme una voz de aliento para continuar superándome cada día.

A mis hermanos Mario, Romel y Adolfo quienes son mi ejemplo a seguir y por haber estado junto a mí brindándome su apoyo en todo momento.

Y muy especialmente este proyecto está dedicado a dos personas que no están conmigo físicamente pero su recuerdo permanece siempre en mi memoria, para mi mamá y mi hermana, aunque sé que ya no estarán conmigo para ver mis logros, siempre serán mi fuerza y mi inspiración de cada día.

Con cariño,

Lidia Mariana Castillo Bustamante

AGRADECIMIENTO

A mi Dios quien me guio y me dio las herramientas necesarias para lograr culminar esta etapa y con certeza afirmo que mi confianza siempre estuvo puesta en un gran Dios que cumple sus promesas. A mi compañera Lidia por su compromiso y alto nivel de responsabilidad no solo en este trabajo de investigación, también durante toda la carrera. A mi tutor Dr. Manuel Pérez y docentes de la Universidad Estatal Amazónica que siempre estuvieron prestos a compartir sus valiosos conocimientos en todo este transcurso, quienes me ayudaron en mi crecimiento profesional con gran paciencia y dedicación. Y finalmente y no menos importante, a mi familia, que a pesar de las adversidades me permitieron continuar con este sueño, su apoyo incondicional en todo este proceso para mí fue fundamental.

Carla Marcela Merino Calapucha

DEDICATORIA

Son merecedores de todo el esfuerzo puesto en este trabajo, Brittany y Brandon mis niños adorados y César un gran compañero de vida, quienes me han apoyado con paciencia y amor desde el inicio de mi carrera universitaria, dándome el apoyo económico y moral suficiente, para no decaer cuando todo parecía imposible, por atravesar las dificultades unidos y mirando hacia el futuro, ustedes a quienes amo tanto, conocen todos los sacrificios que como familia nos conllevó al logro de esta meta y aun así me siguen alentando a continuar firme en cada peldaño escalado. A mi Madre, sus sabios consejos me ayudaron a no rendirme a pesar de las dificultades que se presentaron, no solo me dio la vida si no también la dicha de tenerla todos los días, para ayudarme a resolver mis problemas académicos y sobre todo los de la vida. Mamita te quiero.

Carla Marcela Merino Calapucha

RESUMEN EJECUTIVO

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante en una bebida fermentada de pulpa de banano orito (*Musa acuminata* AA). Para elaborar la bebida se realizó un diseño experimental (DCC), combinando distintas concentraciones de ácido cítrico (0,3; 0,6 y 0,9%) y temperaturas (50; 60 y 70°C) resultando trece tratamientos. Se evaluaron compuestos fenólicos por el método de Folin Ciocalteu y actividad antioxidante total usando los métodos: FRAP Y ABTS, obteniendo valores altos para T0 (4,888 mg/L) y T3 (4,616 mg/L). Se realizó un análisis sensorial con una escala hedónica de 5 puntos a los tratamientos que obtuvieron una mayor presencia de compuestos fenólicos, a través de la prueba de Kruskal Wallis se evaluó color, aroma y sabor donde el parámetro sabor del T3 tuvo diferencia significativa entre los tratamientos. Se analizaron parámetros físico-químicos (Brix, pH, acidez titulable y grado alcohólico) y microbiológicos (coliformes, mohos y levaduras) para T3 donde se obtuvo 3 de pH moderadamente ácido; 0,2 g/L acidez; 15 grados Gay Lussac encontrándose dentro de los límites permisibles según las normas NTE 374 y NTC 708. Los análisis microbiológicos muestran; levaduras 8 UFC/ml, hongos 3 UFC/ml y ausencia de Coliformes totales, quedando dentro de los niveles permisibles según NTE 2337 y 2802. Concluyendo que el T₃ a 60°C y concentración de 0,9% de ácido cítrico logró conservar las características organolépticas del banano orito, además presentó valores altos de compuestos fenólicos y actividad antioxidante.

Palabras clave: *Musa acuminata* AA, pardeamiento enzimático, bebida fermentada, antioxidantes.

ABSTRACT

The present research work aimed to evaluate phenolic compounds and antioxidant activity in a fermented drink of banana pulp orito (*Musa acuminata* AA). An experimental design (DCC) was carried out to make the drink, from which thirteen treatments were obtained, combining different concentrations of citric acid (0.3; 0.6 and 0.9%) and temperatures (50; 60 and 70°C). Phenolic compounds were evaluated by the Folin Ciocalteu method and total antioxidant activity using the methods FRAP and ABTS, obtaining high values for T0 (4,888 mg/L) and T3 (4,616 mg/L) treatments. Sensory analysis with a 5-point hedonic scale was performed on treatments that obtained a greater presence of phenolic compounds, through the Kruskal Wallis test color, aroma and flavor were evaluated where the taste parameter had a significant difference between the treatments. The physical-chemical parameters (Brix, pH, titrated acidity and alcoholic strength) and microbiological (coliforms, molds and yeasts) were evaluated, ranges of 2 and 3 pH moderately acidic were obtained; 0.2 g/L acidity; 15 degrees Gay Lussac being within permissible limits according to the rules. Microbiological analyses show for T3; yeasts 8 CFUs/ml, fungi 3 CFU/ml and absence of total Coliforms, falling within permissible levels. It is concluded that T3 at 60°C and concentration of 0.9% citric acid managed to preserve the organoleptic characteristics of banana orito, in addition presented high values of phenolic compounds and antioxidant activity.

Keywords: *Musa acuminata* AA, enzymatic browning, fermented drink, antioxidants.

TABLA DE CONTENIDOS

CAPÍTULO I.	1
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN Y SU JUSTIFICACIÓN.....	2
1.1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
1.1.2. JUSTIFICACIÓN	2
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	3
1.3. OBJETIVOS.....	3
1.3.1. OBJETIVO GENERAL.....	3
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
CAPÍTULO II.	4
2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN	4
2.1. ANTECEDENTES	4
2.2. BASES TEÓRICAS.....	4
2.2.1. ORITO (<i>Musa acuminata</i> AA)	4
2.2.2. CARACTERÍSTICA DE LA FRUTA	5
2.2.3. TAXONOMÍA DEL ORITO	5
2.2.4. VARIEDADES	5
2.2.5. EXPORTACIÓN	5
2.2.6. VALOR NUTRICIONAL	6
2.3. BEBIDAS FERMENTADAS	6
2.4. AGENTES PROTECTORES DE LA OXIDACIÓN	6
2.4.1. ÁCIDO CÍTRICO	6
2.4.2. TRATAMIENTO TÉRMICO. ESCALDADO	7
2.5. PARDEAMIENTO ENZIMÁTICO	7
2.6. POLIFENOLES	7
2.6.1. ÁCIDO GÁLICO	7
2.6.2. TROLOX	7
2.6.3. VITAMINA E.....	7
CAPÍTULO III.	8
3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	8
3.1. LOCALIZACIÓN	8
3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN	8
3.3. MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN	8
3.4. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	9
3.4.1. DESCRIPCIÓN DE LA TECNOLOGÍA.....	9
3.4.2. DIAGRAMA DE BLOQUES.....	11
3.4.3. DISEÑO EXPERIMENTAL	12
3.5. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.....	12

3.5.1.	DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES. MÉTODO FOILN-CIOCALTEAU.....	12
3.5.2.	DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL. MÉTODO FRAP.....	13
3.5.3.	DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL. MÉTODO ABTS.....	15
3.6.	EVALUACIÓN SENSORIAL DEL PRODUCTO	16
3.6.1.	POBLACIÓN Y MUESTRA.....	16
3.7.	ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO	16
3.7.1.	GRADOS BRIX	16
3.7.2.	pH.....	17
3.7.3.	ACIDEZ TOTAL.....	17
3.7.4.	GRADO ALCOHÓLICO	17
3.8.	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	19
CAPÍTULO IV.....	20	
4. RESULTADOS	20	
4.1.	ELABORACIÓN DE LA BEBIDA FERMENTADA Y DISEÑO CENTRAL COMPUESTO.....	20
4.2.	EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.....	21
4.2.1.	MÉTODO FOLIN CIOCALTEAU	21
4.2.2.	MÉTODO FRAP Y ABTS	27
4.3.	EVALUACIÓN SENSORIAL.....	28
4.4.	ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS	29
4.5.	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS	31
CAPÍTULO V.....	33	
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	33	
5.1.	CONCLUSIONES	33
5.2.	RECOMENDACIONES	34
CAPÍTULO VI.....	35	
6. BIBLIOGRAFÍA	35	
CAPÍTULO VII.....	39	
7. ANEXOS	39	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica del orito.	5
Tabla 2. Contenido nutricional del banano orito maduro.	6
Tabla 3. Diseño Central Compuesto.	12
Tabla 4. Preparación de la curva patrón de ácido gálico a partir de una disolución concentrada de 1 000 mg. L ⁻¹ . Volumen final 10 mL (agua destilada).	13
Tabla 5. Preparación de la curva patrón de Trolox a partir de una disolución concentrada de 10 mg. L ⁻¹	14
Tabla 6. Preparación de la curva patrón de Trolox a partir de una disolución concentrada de 10 mg.L ⁻¹ . Volumen final 10 mL (agua destilada).	15
Tabla 7. Requisitos específicos del vino de frutas.	18
Tabla 8. Requisitos físico-químicos del vino de frutas.	18
Tabla 9. Requisitos microbiológicos para productos pasteurizados.	19
Tabla 10. Requisitos microbiológicos para bebidas fermentadas.	19
Tabla 11. Diseño Central Compuesto.	20
Tabla 12. Valores de absorbancia versus concentración de ácido gálico de los tratamientos estudiados en el día 1.	21
Tabla 13. Valores de absorbancia versus concentración de ácido gálico de los tratamientos estudiados en el día 8.	22
Tabla 14. Diseño Central Compuesto para el efecto de temperatura y porcentaje de ácido cítrico sobre contenido de fenoles totales por el método de Folin. Bebida fermentada de orito.	23
Tabla 15. ANOVA para el DCC de la bebida fermentada de orito.	23
Tabla 16. Valores óptimos predichos y experimentales, adquiridos en el proceso de optimización.	27
Tabla 17. Valores de absorbancia versus concentración de Trolox de los mejores tratamientos.	27
Tabla 18. Resumen de las medianas de los tratamientos por atributo. Prueba de Kruskal Wallis.	28
Tabla 19. Grados °Brix antes y después de la fermentación.	30
Tabla 20. pH de la bebida fermentada de pulpa de banano orito.	30
Tabla 21. Resultados de acidez en la bebida fermentada de pulpa de banano orito.	31
Tabla 22. Resultados de mohos y levaduras, Coliformes totales en la bebida fermentada de pulpa de banano orito.	32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación de Universidad Estatal Amazónica.....	8
Figura 2. Diagrama de bloques elaboración bebida fermentada.	11
Figura 3. Curva patrón de ácido gálico para la determinación de polifenoles totales.....	13
Figura 4. Curva patrón de Trolox para actividad antioxidante total (FRAP).....	14
Figura 5. Curva patrón de Trolox para actividad antioxidante total (ABTS).....	15
Figura 6. Valores de actividad polifenólica expresado en mg.ml^{-1} de ácido gálico en los tratamientos estudiados. Día 8.....	22
Figura 7. Modelo cuadrático relación predicha y experimental de FT.....	24
Figura 8. Gráfico de superficie de respuesta (arriba) y el gráfico de contorno (abajo).....	25
Figura 9. Gráfico de interacción temperatura (arriba) y de ácido cítrico (abajo).....	26
Figura 10. Valores de absorbancia versus concentración de Trolox de los tratamientos seleccionados.....	28

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Diagrama de bloques de la elaboración de una bebida fermentada de pulpa de banano orito.....	39
Anexo 2. Formato de encuesta aplicada en evaluación sensorial.....	40
Anexo 3. Informe de resultados del análisis microbiológico realizado a la bebida fermentada de pulpa de banano orito.....	41
Anexo 4. Elaboración de la bebida fermentada de pulpa de banano orito.	42
Anexo 5. Evaluación de Polifenoles totales. Método Folin Ciocalteau.	43
Anexo 6. Evaluación de actividad antioxidante total. Método FRAP.....	43
Anexo 7. Evaluación de actividad antioxidante total. Método ABTS.	44
Anexo 8. Análisis físico-químicos. Medición de grados Brix.	44
Anexo 9. Medición de pH.	44
Anexo 10. Medición de la acidez.	45
Anexo 11. Destilación para determinación de Grado Alcohólico.....	45
Anexo 12. Evaluación sensorial de los tratamientos con mayor contenido de antioxidantes.	45
Anexo 13. Análisis microbiológicos (mohos y levaduras, coliformes totales).	46
Anexo 14. Análisis de la variable color mediante la prueba de Kruskal Wallis.	46
Anexo 15. Análisis de la variable aroma mediante la prueba de Kruskal Wallis.	46
Anexo 16. Análisis de la variable sabor mediante la prueba de Kruskal Wallis.....	46
Anexo 17. Resultados del análisis sensorial por atributo para los mejores tratamientos....	47

CAPÍTULO I.

1. INTRODUCCIÓN

En Ecuador, el banano orito es una fruta que ocupa una extensión importante de hectáreas en producción, según los datos de (Pro Ecuador, 2017); se señala que la exportación de esta fruta se realiza a distintos países alrededor del mundo y ha logrado tener un porcentaje de participación del 3,26 % dentro de las exportaciones no petroleras. La diversificación de la producción y exportación del banano orito son algunas de las actividades que se busca incrementar actualmente mediante técnicas agrícolas e industriales que permitan obtener resultados socio-económicos positivos que aporten a la economía del país (De la Guerra, 2015).

En la provincia de Pastaza el cultivo de banano orito se encuentran en la mayoría de casos asociado a otros cultivos, representa una superficie agrícola de cincuenta y siete hectáreas las cuales producen alrededor de trecientas sesenta toneladas métricas de orito por año, su comercialización es principalmente en mercados locales como fruta fresca sin que el producto sea transformado industrialmente.

El procesamiento industrial del banano orito a nivel local es escaso, debido al desconocimiento de las propiedades antioxidantes y beneficios que aporta al consumidor el mismo que genera poco interés limitando las posibilidades de transformar productos tales como mermeladas, compotas, hojuelas, bebidas, harina para fabricar pienso y demás productos derivados que pueden generar valor y aumentar beneficios económicos tanto para productores como para quienes comercializan los productos.

El presente trabajo de investigación pretende incentivar la diversificación del portafolio de productos derivados del banano orito a comercializar en el mercado local y nacional, además dar a conocer los métodos que se utilizó para reducir el pardeamiento enzimático en la fruta el cual es uno de los factores que limita su industrialización. Finalmente se realizó la evaluación de contenido antioxidante en la bebida fermentada de pulpa de banano orito (*Musa acuminata* AA).

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN Y SU JUSTIFICACIÓN

1.1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la provincia de Pastaza la comercialización de orito en fruta tiene una gran acogida entre los consumidores por su valor nutritivo y valor económico, en la actualidad hay quienes buscan alternativas diferentes de consumo, basándose en un producto funcional que aporte beneficios a su salud, esta exigencia hace que se desarrollen nuevas tecnologías para la diversificación de productos a partir del orito, tales como deshidratados, mermelada, harina, entre otros.

El problema identificado es el desconocimiento de contenido antioxidante en el banano orito (*Musa acuminata* AA) para la obtención de una bebida fermentada.

1.1.2. JUSTIFICACIÓN

La Región Amazónica del Ecuador, posee un alto potencial productivo para el cultivo de orito, es una de las especies del género musáceas más resistentes y de fácil adaptación, además es considerado uno de las principales fuentes de alimento para las familias que habitan en el sector, sin embargo, es un producto mínimamente explotado por lo que ha generado interés en la búsqueda de métodos y/o tecnologías adecuados para el procesamiento del orito, creando fuentes de trabajo, tanto en el procesamiento de la materia prima como en la producción agrícola de la provincia Pastaza; donde los productores de orito incrementarán sus ingresos económicos por la comercialización de los frutos y de esta manera permitir la diversificación de productos derivados.

Uno de los limitantes en la industrialización del orito, es el pardeamiento enzimático principal causante de efectos negativos en la calidad y costo comercial del orito, provoca importantes cambios en las propiedades organolépticas como la producción de malos olores que actúan negativamente sobre la composición nutricional. Sélles (2007), menciona que la oxidación directa de diferentes frutos y vegetales en presencia de polifenol oxidasa PPO y peroxidasa POD disminuye el estado antioxidante.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cómo influye la utilización de concentraciones de ácido cítrico y la temperatura en la actividad antioxidante total y en las características organolépticas de la bebida fermentada de pulpa de banano orito?

1.3. OBJETIVOS

1.3.1.OBJETIVO GENERAL

Evaluar el contenido antioxidante en una bebida fermentada de pulpa de banano orito (*Musa acuminata* AA) con la combinación de ácido cítrico y temperaturas a diferentes concentraciones.

1.3.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Elaborar una bebida fermentada de banano orito (*Musa acuminata* AA) combinando ácido cítrico al 0,3%; 0,6% y 0,9% y temperaturas de 50°C, 60°C y 70°C en un Diseño Central Compuesto.
- Determinar el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante a los tratamientos aplicando los métodos: Folin Ciocalteau, FRAP y ABTS
- Realizar pruebas sensoriales al 95% de confiabilidad a los tratamientos con mayor contenido de fenoles y actividad antioxidante total.
- Evaluar los parámetros físico-químicos y microbiológicos al mejor tratamiento de la bebida fermentada de acuerdo a lo establecido en NTE INEN.

CAPÍTULO II.

2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. ANTECEDENTES

La fruta de orito, perteneciente al género *Musa*, es una variedad de banano endémica del Ecuador; se caracteriza por ser de tamaño pequeño, su pulpa es color crema, de textura suave, sabor más dulce y concentrado, de rápida maduración, su cáscara presenta una marcada coloración verde amarillosa y es más delgada comparada con el banano, siendo más susceptible a daños durante la cosecha, transporte y en post cosecha (Salau, 2015).

El cultivo de banano orito en Ecuador se encuentra distribuido por todas las regiones del área continental, los agricultores que se dedican al cultivo de orito han podido experimentar que a alturas entre 200 y 800 m.s.n.m. existe una mínima presencia de enfermedades, siendo de esta manera las condiciones más favorables para producir una fruta de calidad (Villalva, 2017).

En Ecuador existe una superficie destinada a la producción de orito de 3756 hectáreas, la Costa tiene alrededor de 248 ha, la región Sierra y Amazonía cuentan con la mayor área de producción siendo que su superficie sembrada en hectáreas es de 2874 y 635 respectivamente. La producción total de orito en el país en el año 2018 fue de 18345 toneladas métricas (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, 2018).

En la provincia de Pastaza se cultivan alrededor de 57 hectáreas de banano orito, los sembríos están asociados con otras especies vegetales y en algunos casos son sembrados en sistemas de monocultivo, con una producción anual de 360 toneladas métricas aproximadamente, esta fruta es utilizada únicamente para consumo interno y en estado fresco (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, 2017).

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. ORITO (*Musa acuminata* AA)

El banano orito (*Musa acuminata* AA), ha sido identificado como un híbrido de las musáceas, mide en promedio de 10 a 12 cm, logró adaptarse en la Amazonia ecuatoriana, debido a su clima tropical y de ahí se ha ido extendiendo su cultivo por las demás regiones de Ecuador (Cedeño & Duarte, 2017).

2.2.2. CARACTERÍSTICA DE LA FRUTA

El orito se caracteriza por tener un peso mayor que las otras variedades de musáceas, posee un sabor más dulce, color y una textura particular que lo diferencia de la banana tradicional, una cualidad de la fruta es que durante todo el año produce (Nieto & León, 2015).

La forma del racimo es semejante al de un banano, pero más pequeño, los frutos son cortos, en cada racimo se encuentran de 6 hasta 11 manos, su forma es redondeada, a la madurez es de color amarillo, la pulpa es de color crema, de textura blanda y sabor dulce (Álvarez, 2018).

2.2.3. TAXONOMÍA DEL ORITO

En la Tabla 1 se detalla la clasificación del banano orito, fruta que pertenece al género *Musa* y especie *M. acuminata* AA.

Tabla 1. Clasificación taxonómica del orito.

Clasificación taxonómica	
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Orden	Zingiberales
Familia	Musaceae
Genero	<i>Musa</i>
Especie	<i>acuminata</i> AA

Fuente: (Carrera, 2015)

2.2.4. VARIEDADES

A nivel nacional existe una sola variedad conocida y su nombre científico es *Musa acuminata* AA. Comercialmente se conoce en el extranjero y en el mercado interno como Baby banana, Exotic Banana y Orito (El banano orito despunta en los mercados, 2014).

2.2.5. EXPORTACIÓN

En el año 2014, según datos del BCE se exportó el 53,1% a Estados Unidos; 26,5% a Bélgica y el porcentaje restante 20,4% se divide entre Colombia, Nueva Zelanda, Japón, Francia, Holanda, entre otros. Se exportan mensualmente cerca de 10 toneladas de orito a Europa, principalmente a Rotterdam, y a los Países Bajos. En el Ecuador las empresas comercializadoras del banano orito en fruta al extranjero son Dole Fresh Fruit International

Ltd., Corporación Noboa, Banafresh, Dusak, Golden Forse, etc (El banano orito despunta en los mercados, 2014).

2.2.6. VALOR NUTRICIONAL

La composición nutricional del banano orito lo vuelve un alimento saludable, por poseer vitamina B6, vitamina C, fibra y potasio por lo que se recomienda como complemento para la nutrición de los infantes, deportistas y mujeres embarazadas (Álvarez, 2018).

En la Tabla 2 se detalla la composición nutricional del banano orito, descrita en la tabla de composición de los alimentos ecuatorianos.

Tabla 2. Contenido nutricional del banano orito maduro.

PLÁTANO ORITO MADURO					
Contenido nutritivo en 100 gramos, porción aprovechable					
Humedad (g)	68,9	Fibra (g)	0,6	Caroteno (mg)	0,3
Calorías	111	Ceniza (g)	0,5	Tiamina (mg)	0,02
Proteína (g)	1,2	Calcio (mg)	6	Riboflavina (mg)	0,03
Extracto etéreo (g)	0,2	Fosforo (mg)	21	Niacina (mg)	0,57
Carbohidratos totales (g)	29,2	Hierro (mg)	0,7	Ácido ascórbico (mg)	16

Fuente: (Tabla de composición de los alimentos ecuatorianos, 1975)

2.3. BEBIDAS FERMENTADAS

Son el producto obtenido mediante fermentación alcohólica del mosto de las frutas maduras, sanas y limpias, debe presentar aspecto trasparente, exento de residuos sedimentados o sobrenadantes, la coloración y el aroma característicos, de acuerdo a la clase de fruta utilizada, una graduación entre el 5% y el 18% de alcohol (Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 374, 1987).

2.4. AGENTES PROTECTORES DE LA OXIDACIÓN

2.4.1. ÁCIDO CÍTRICO

Es un ácido orgánico, que proviene de frutas y vegetales, ampliamente utilizado hoy en día en la industria alimentaria, farmacéutica y cosmetológica (Muñoz, Sáenz, López, Cantú, & Barajas, 2014).

2.4.2. TRATAMIENTO TÉRMICO. ESCALDADO

Peñañiel (2017) afirma que la enzima polifenol oxidasa puede ser desnaturalizada mediante escaldado a temperaturas de 70 a 90°C. En bananos *Musa cavendish* se reportó actividad a una temperatura óptima de 30°C y una inactivación térmica a temperaturas entre 60 – 75°C.

2.5. PARDEAMIENTO ENZIMÁTICO

El pardeamiento se produce por la acción de la enzima polifenol oxidasa, lo que ocasiona importantes cambios en las propiedades organolépticas de frutos y vegetales, además promueve olores desagradables y reduce el valor nutricional (Morante et al., 2014).

Después del corte en la superficie de un tejido se llega a producir la reacción de pardeamiento, se desestructura la célula y produce la liberación de los componentes (Piedra, 2017). Para evitar el oscurecimiento de la pulpa se adiciona un poco de agua hervida (aproximadamente 70 °C), es fundamental elevar su acidez, con la adición de ácido cítrico (Guerrero et al., 2012).

2.6. POLIFENOLES

Sustancias químicas que poseen en su estructura más de un grupo hidroxilo por molécula y varios anillos aromáticos. Son metabolitos secundarios presentes en alimentos de origen natural, ingresan al organismo por medio de la ingesta diaria. Se subdividen en taninos condensados e hidrolizables (Govea et al., 2013).

2.6.1. ÁCIDO GÁLICO

Compuesto reconocido por la industria farmacéutica y alimentaria por su actividad antioxidante que disminuye los radicales libres y además tiene capacidad antibacteriana y antiviral (Costa, Rodríguez, Silva, Santos, & Lizarazo, 2018).

2.6.2. TROLOX

Antioxidante de referencia semejante a la vitamina E, se disuelve fácilmente en agua y se utiliza para bloquear los radicales libres (Cofré-Martínez, 2015).

2.6.3. VITAMINA E

Está presente en diversos alimentos, se disuelve en lípidos, funciona como antioxidante y protege las células de los efectos ocasionados por los radicales libres (National Institutes of Health, 2016).

CAPÍTULO III.

3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. LOCALIZACIÓN

El proyecto se realizó en la provincia de Pastaza, parroquia Puyo, en el Campus Principal de la Universidad Estatal Amazónica ubicado en la troncal amazónica vía Puyo-Tena km 2 ½, en las siguientes coordenadas 1° 28' 2" S, 77° 59' 50" O, en los laboratorios de Agroindustrias, Química y Microbiología.



Fuente: Google Maps

Figura 1. Ubicación de Universidad Estatal Amazónica.

3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Mediante la investigación de tipo descriptiva y experimental se llevó a cabo la revisión bibliográfica y posteriormente la experimentación de laboratorio.

3.3. MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación estuvo enfocada en la evaluación de contenido de antioxidantes en una bebida fermentada de pulpa de banano orito, se realizó un diseño experimental para determinar la formulación más apropiada que involucre concentraciones de aditivos que permitan conservar las características principales en la bebida.

3.4. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

3.4.1. DESCRIPCIÓN DE LA TECNOLOGÍA

La bebida fermentada de banano orito, es un producto derivado de la fermentación de la pulpa, sus características sabor dulce, color propio de la fruta. La Figura 2 muestra las etapas del proceso para la elaboración.

RECEPCIÓN

Se verificó el estado de la fruta que entró al proceso, la operación se efectuó utilizando recipientes adecuados, balanzas calibradas.

SELECCIÓN

Se descartó la fruta que presentó golpes, magulladuras, daños generales y aquella que no alcanzó el grado de madurez adecuado.

LAVADO

Para eliminar microorganismos y suciedad de la fruta se utilizó agua clorada.

DOSIFICADO

Posterior se realizó un escaldado en donde el agua contenía distintas concentraciones de ácido cítrico para los tratamientos, desactivando la acción enzimática.

PELADO

La eliminación de la cáscara se realizó de forma manual.

LICUADO

Se añadió la pulpa de la fruta en el agua previamente calentada a temperaturas de 50, 60 y 70°C para los tratamientos de acuerdo al diseño experimental planteado.

INOCULADO

Se preparó la levadura un gramo por litro de concentrado de fruta más azúcar, esta mezcla se activó en un recipiente a una temperatura de 30° a 35°C, luego se adicionó la levadura preparada al mosto mezclando con un agitador a 21 °C. Se procedió a sellar el tanque fermentador para evitar el ingreso de impurezas del ambiente.

FERMENTADO

Se colocó un lienzo como trampa de aire dejando la mezcla en bidones para la etapa de fermentación de tres a ocho días a temperatura ambiente.

FILTRADO

Se esterilizó un lienzo para eliminar la levadura y la pulpa residual.

CLARIFICADO

Se añadió un gramo de Agar-agar previamente diluido por cada ocho litros de mosto fermentado.

ENVASADO

Se realizó manualmente en botellas de vidrio ámbar para evitar la pérdida de polifenoles, previamente los envases se esterilizaron, sumergiéndolos en agua caliente durante un tiempo corto.

PASTEURIZADO

Posterior al envasado se sometieron las botellas contenidas de la bebida fermentada con el corcho colocado sin presionar a una temperatura de 70°C durante 10 minutos.

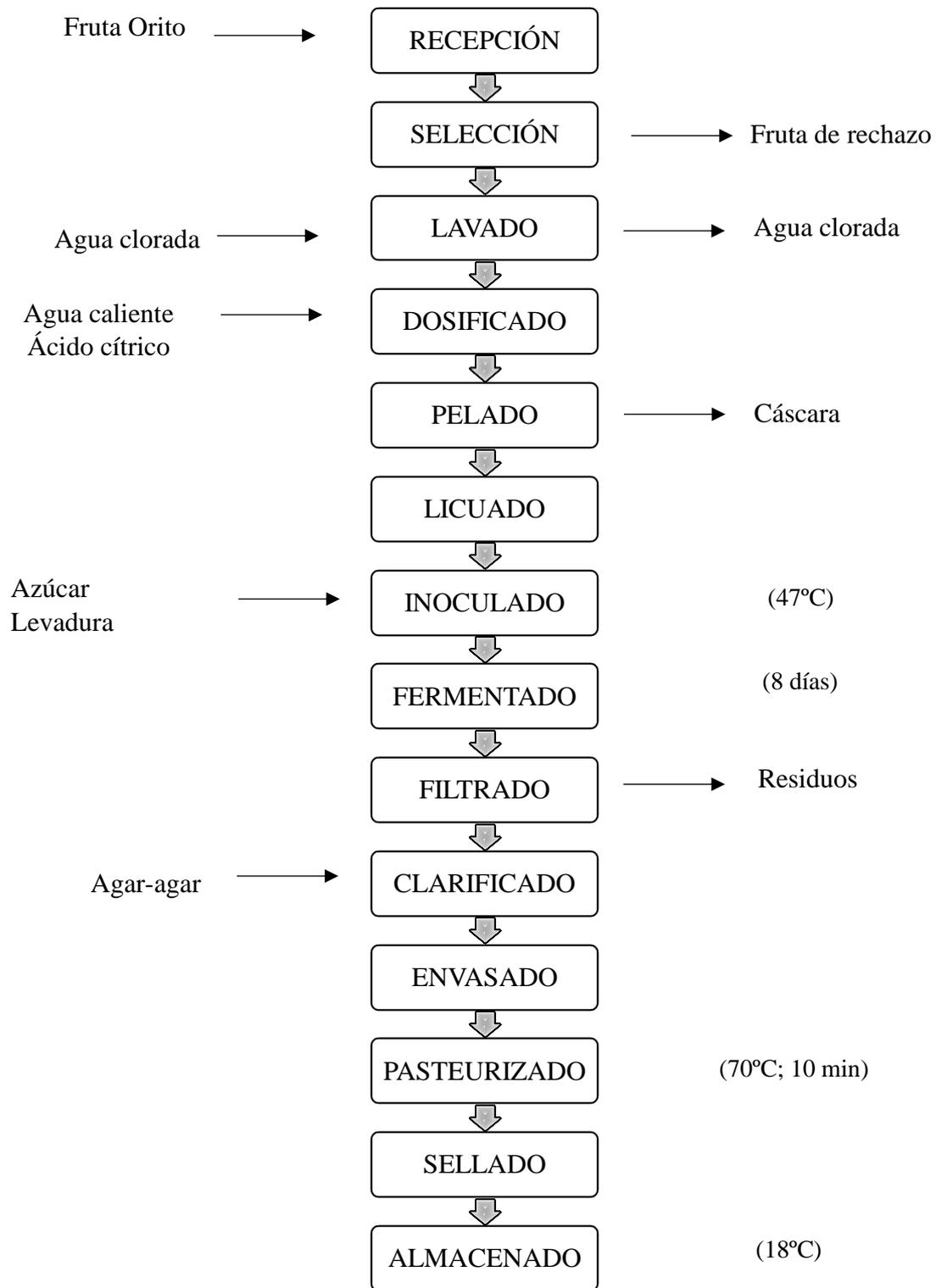
SELLADO

Concluida la pasteurización se aseguraron los corchos de forma manual.

ALMACENADO

Una vez obtenido el producto se procedió a almacenar a temperaturas de 8 a 18°C, protegido de la luz directa.

3.4.2. DIAGRAMA DE BLOQUES



Fuente: Autores

Figura 2. Diagrama de bloques elaboración bebida fermentada.

La Figura 2 representa la secuencia continua de todas las operaciones en un diagrama, desde la recepción de la materia prima y concluye con el almacenamiento del producto terminado para el proceso de elaboración de la bebida fermentada de pulpa de banano orito (*Musa acuminata* AA).

3.4.3.DISEÑO EXPERIMENTAL

Se realizó un Diseño Central Compuesto, con un experimento bifactorial por tres niveles, en donde el factor A representa temperaturas y B concentración de ácido cítrico para determinar el método más efectivo en la reducción del pardeamiento enzimático (Tabla 3):

Tabla 3. Diseño Central Compuesto.

DATOS EXPERIMENTALES	
Factor A: Temperatura	Factor B: Concentración Ácido Cítrico
A ₀ : 50 °C	B ₀ : 0,3 %
A ₁ : 60 °C	B ₁ : 0,6 %
A ₂ : 70 °C	B ₂ : 0,9 %

Fuente: Autores

3.5. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

3.5.1.DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES. MÉTODO FOILN-CIOCALTEAU.

Fenoles totales con capacidad antioxidante: Se realizó por el método colorimétrico de Folin-Ciocalteau diseñado por Singleton y Rossi (1965) que determina la capacidad que tienen los polifenoles para reducir el Mo (VI) a Mo (V), como resultado de tal reacción, el reactivo de color amarillo adquiere un intenso color azul que se mide con el espectrofotómetro.

Para la preparación de las muestras, 40 µL de extracto y 500 µL de reactivo de Folin-Ciocalteau se colocó en un matraz aforado de 10 ml, se agitó y se dejó reposar la mezcla protegida de la luz por un tiempo de 8 minutos. Después se añadió 500 µL de la disolución de carbonato de sodio al 10% y se llevó a un volumen de 10 ml con agua destilada. La disolución se homogenizó agitando de forma manual el matraz aforado y se mantuvo en la oscuridad a temperatura ambiente durante 2 horas. Se midieron las absorbancias de las muestras de extractos y de patrones 765 nm contra el blanco de reactivos.

Para la implementación del ensayo de Folin-Ciocalteau (Singleton & Rossi, 1965), se necesitó la construcción previa de una curva de calibración mediante diluciones sucesivas

a partir de una disolución concentrada (disolución madre) de 1000 mg.L⁻¹ de ácido gálico (estándar de referencia). A partir de esta disolución se prepararon 10 ml de cada una de las disoluciones diluidas de concentraciones crecientes de ácido gálico entre 5 y 25 mg.L⁻¹ (Tabla 4).

Tabla 4. Preparación de la curva patrón de ácido gálico a partir de una disolución concentrada de 1 000 mg. L⁻¹. Volumen final 10 mL (agua destilada).

Componentes añadidos	Disoluciones				
	5	10	15	20	25
Ácido gálico patrón (µL)	50	100	150	200	250
Reactivo de Folin-Ciocalteau (µL)	500	500	500	500	500
Disolución de Carbonato de sodio 10% (µL)	500	500	500	500	500

Fuente: Autores

A continuación, en la figura 3 se presenta la curva de calibración del ácido gálico usado como patrón de referencia para la determinación de polifenoles totales.

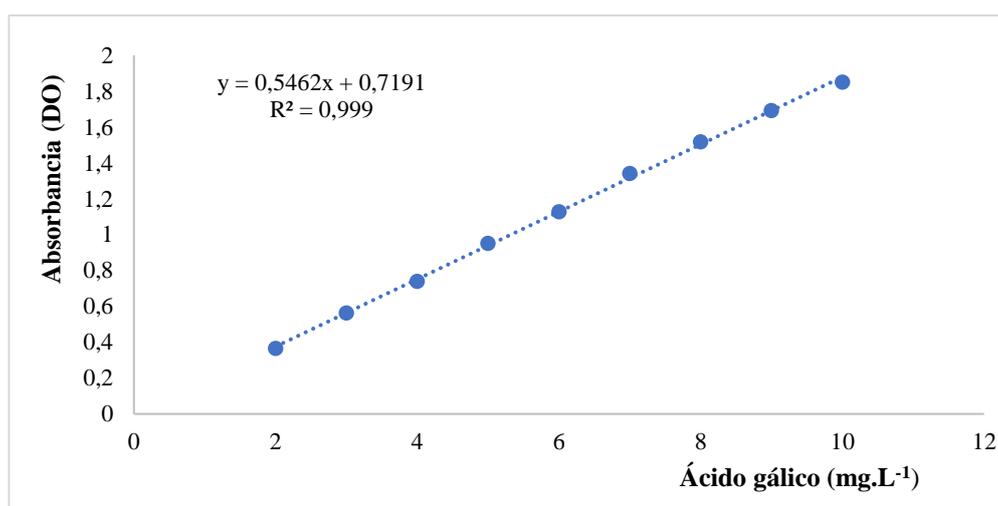


Figura 3. Curva patrón de ácido gálico para la determinación de polifenoles totales.

3.5.2.DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL. MÉTODO FRAP.

Método FRAP Ferric ion Reducing Antioxidant Power (Thaipong, Boonprakob, Crosby, Cisneros-Zevallos, & Byrne, 2006). En este método se determinó la capacidad antioxidante de forma indirecta. Se basa en el poder que tiene una sustancia antioxidante para reducir el Fe³⁺ a Fe²⁺ que es menos antioxidante. El complejo férrico-2, 4,6- tripiridil-s-triazina (TPTZ) incoloro es reducido al complejo ferroso coloreado.

El reactivo FRAP se preparó mezclando 2,5 mL de una solución de TPTZ 10 mM en HCl 40 mM y 2,5 mL FeCl₃ 20 mM en agua, se agitaron en vórtex hasta obtener una solución de color azul, posteriormente se adicionaron 25 mL de buffer de acetatos 300 mM pH 3,6. Se tomó 1 mL del reactivo FRAP, se incubó a 37 °C durante 5 min y se midió la absorbancia inicial del reactivo a 593 nm.

La curva de calibración se realizó con Trolox en etanol en un rango de 2 a 50 µM, y el orden de adición de las soluciones fue el siguiente: 900 µL del reactivo FRAP, 80 µL de agua y 30 µL de las soluciones de la curva de calibración. La mezcla resultante se agitó en vórtex durante 1 min, se incubó a 37 °C durante 5 min y se midió la absorbancia final a 593 nm. Las muestras fueron procesadas de la misma forma adicionando 30 µL de la dilución al 50 % v/v de cada uno de los extractos, incubando a 37 °C durante 30 min y midiendo la absorbancia a 593 nm (Tabla 5).

Tabla 5. Preparación de la curva patrón de Trolox a partir de una disolución concentrada de 10 mg. L⁻¹.

Componentes añadidos	Disoluciones				
	5	10	15	20	25
Trolox (µL)	5	10	15	20	25
TPTZ 10 mM	900	900	900	900	900
Disolución de Carbonato de sodio 10% (µL)	500	500	500	500	500

Fuente: Autores

En la figura 4 se observa la curva de calibración de Trolox usado como patrón de referencia para la determinación de la actividad antioxidante total (FRAP).

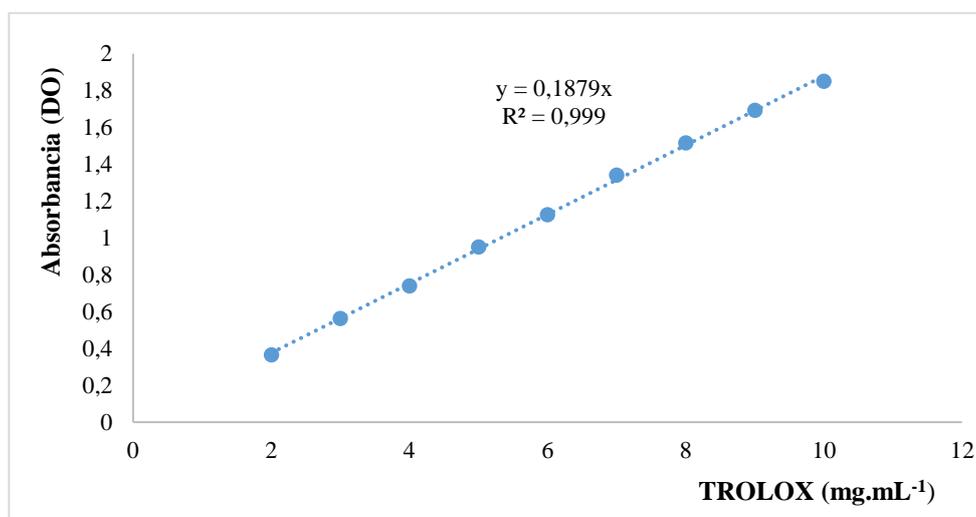


Figura 4. Curva patrón de Trolox para actividad antioxidante total (FRAP).

3.5.3.DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL. MÉTODO ABTS.

Para la evaluación de la actividad antioxidante total por el método del radical catiónico 2,2-Azinobis-(3- etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS) se empleó el método de Re et al., (1999). Según la metodología desarrollada por Re et al. (1999) el radical ABTS⁺ se logra tras la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato potásico (2,45 mM, concentración final) que se incuban a temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) en un lugar oscuro por un periodo de 16 horas. Una vez desarrollado el radical ABTS⁺ se diluyó con etanol hasta alcanzar un valor de absorbancia entre 0,873 ($\pm 0,1$) a 730 nm (longitud de onda de máxima absorción). Se añadió 80 μL de la muestra para ser comparado con el blanco. En la Tabla 6 se muestra la preparación de la curva de calibración que se realizó con Trolox.

Tabla 6. Preparación de la curva patrón de Trolox a partir de una disolución concentrada de 10 mg.L⁻¹. Volumen final 10 mL (agua destilada).

Componentes añadidos	Disoluciones				
	5	10	15	20	25
Trolox (μL)	5	10	15	20	25
ABTS 7 mM (ml)	2	2	2	2	2
Persulfato de potasio 2,45 mr. (ml)	1	1	1	1	1

En la Figura 5 se observa la curva de calibración de Trolox usado como patrón de referencia para la determinación de la actividad antioxidante total (ABTS).

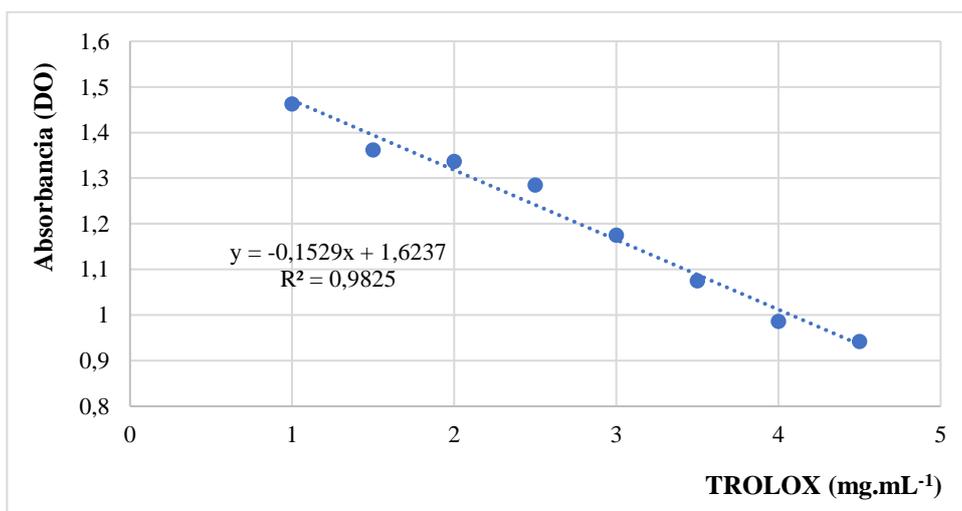


Figura 5. Curva patrón de Trolox para actividad antioxidante total (ABTS).

3.6. EVALUACIÓN SENSORIAL DEL PRODUCTO

3.6.1. POBLACIÓN Y MUESTRA

En la Universidad Estatal Amazónica, Departamento de Ciencias de la Tierra, se ha identificado una parte de la población a los docentes y estudiantes, para evaluar la aceptabilidad de una bebida fermentada de pulpa de banano orito, se determinó un nivel de confianza al 95% y con el 5% de error.

Se efectuó el análisis sensorial a los mejores tratamientos resultantes de la evaluación de contenido de fenoles totales y actividad antioxidante, con 30 panelistas no entrenados de la Universidad Estatal Amazónica, cada panelista analizó dos tratamientos con tres réplicas. Según Watts, Ylimaki, Jeffery, & Elías (1992) señalan que se puede utilizar un panel interno de consumidores en la etapa inicial de estudios de aceptabilidad de un producto conformado por un grupo de 30 a 50 panelistas no entrenados de la misma institución donde se esté llevando a cabo la investigación del producto, debido a que permite un mayor control de las variables y condiciones de evaluación, además es menos costosa y requiere menos tiempo que una prueba orientada al consumidor que consiste en el empleo de 100 a 150 panelistas.

Para lograr diferenciar de entre las muestras, el de mayor aceptabilidad, se aplicó pruebas sensoriales a través de una escala hedónica, se presentaron las muestras codificadas al azar, donde los participantes señalaron en la escala las categorías entre un rango de cinco "Me gusta mucho" hasta uno "Me disgusta mucho" para los parámetros de color, aroma y sabor (Anexo 2). La valoración de los datos obtenidos de la prueba sensorial, se realizó en función del programa estadístico INFOSTAT y la Prueba Kruskal Wallis.

3.7. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO

3.7.1. GRADOS BRUX

La muestra se coloca en la cara del prisma del refractómetro se direcciona hacia la luz y se observa la escala de grados Brix, el área a visualizar se dividirá en dos partes una iluminada y otra oscura, la unión de ambas áreas en un punto representará el Brix del mosto. Según el método (NTE INEN 380, 1986) mediante el uso del refractómetro.

3.7.2. pH

Se mide a través de un electrodo el cual está conectado a un potenciómetro, llamado pHmetro mediante el método NTE INEN 389. Otro método convencional es el uso de bandas de pH que se sumerge en la muestra y se observa la coloración respectiva según el rango de la escala de colores para la determinación de pH. Según la Norma Técnica Colombiana 708 el rango permisible mínimo es de 2,8 y máximo 4. (Tabla 7)

3.7.3. ACIDEZ TOTAL

Como se especifica en el método NTE INEN 341, (1978) titulación con hidróxido de sodio. Mediante el uso de matraz Erlenmeyer de 500cm³, crisol de platino o porcelana de 50 cm³, estufa con regulador de temperatura, bureta de 10 cm³ con graduación de 0,05 cm³, pipeta volumétrica de 25 cm³. Para realizar esta determinación se destila la bebida previamente, en el matraz Erlenmeyer de 500 cm³ al cual se agrega 250 cm³ de agua destilada, 25 cm³ de la muestra y cinco gotas de fenolftaleína al 5%, posteriormente se procede a titular con el reactivo NaOH 0.1N hasta visualizar un cambio de color rosa pálido. La acidez total se determina utilizando la ecuación 1:

$$AT = 2,4 \frac{V_1}{G} \quad (1)$$

Siendo lo siguiente:

AT = Acidez total, expresada en gramos de ácido acético, por cada 100 cm³ de alcohol anhidro.

V1 = Volumen en cm³ de solución 0,1 N de hidróxido de sodio para titulación.

G= Grados de alcohol.

3.7.4. GRADO ALCOHÓLICO

Utilizando el instrumental alcoholímetro centesimal de Gay Lussac, calibrado a 15 y 20 °C graduados en décimas de grado alcohólico según la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 340, (2016). La determinación de grados de alcohol para vino de frutas, según el método de NTE INEN 340, se procede a destilar en un balón de destilación de 1000 ml la cantidad de 250 ml de muestra, mezclado con 100 ml de agua, instalando el refrigerante unido a las mangueras y una probeta o vaso de precipitación para recolectar la muestra

destilada, al obtener el alcohol destilado finalmente se vierte en una probeta, para ser medido con el alcoholímetro.

En la Tabla 7 se muestra los requisitos de pH específicos del vino de frutas establecidos en la Norma Técnica Colombiana 708.

Tabla 7. Requisitos específicos del vino de frutas.

Requisitos	Valores	
	Mínimo	Máximo
Contenido del alcohol en grados alcoholímetros a 20 °C	6	-
Acidez total expresada como ácido tartárico en g/dm ³ (libre de SO ² , CO ² y ácido sórbico)	3,5	10
Acidez volátil expresada como ácido acético en g/dm ³ (libre de SO ² , CO ² y ácido sórbico).	-	1,2
Metanol en mg/dm ³ de alcohol anhidro	-	1000
Azúcares totales previa inversión expresados como glucosa, en g/dm ³		
- Seco	0	15
- Semiseco	15,1	50
- Dulce	50,1	-
Extracto seco reducido en g/dm ³ .	10,0	
Sulfatos expresados como sulfato de sodio, en g/dm ³		2,0
Cloruros expresados como cloruro de sodio, en g/dm ³		1,0
Anhídrido sulfuroso total en mg/dm ³		350
Ácido sórbico o sus sales de sodio o potasio en mg/dm ³ , expresado como ácido sórbico		150
Hierro expresado como Fe en mg/dm ³		8,0
Cobre expresado como Cu en mg/dm ³		1,0
pH	2,8	4,0
Colorantes artificiales	Negativo	

Fuente: (Norma Técnica Colombiana 708, 2000)

La Tabla 8 indica los requisitos físico-químicos que debe cumplir los vinos de frutas.

Tabla 8. Requisitos físico-químicos del vino de frutas.

REQUISITOS	UNIDAD	MÍNIMO	MÁXIMO	MÉTODO DE ENSAYO
Alcohol, fracción volumétrica	%	5	18	INEN 360
Acidez volátil, como ácido acético	g/l	-	1,5	INEN 341
Acidez volátil, como ácido málico	g/l	4	16	INEN 347
Metanol	*	-	0,5	INEN 348
Cenizas	meq/l	1,4	-	INEN 1547
Alcalinidad de las cenizas	g/l	14	-	INEN 353
Cloruros, como cloruro de sodio	g/l	-	2	INEN 354
Glicerina	**	1	10	INEN 355
Anhídrido sulfuroso total	g/l	-	0,32	INEN 356
Anhídrido sulfuroso libre	g/l	-	0,04	INEN 357

* cm³ por 100 cm³ de alcohol anhidro.
 ** g por 100 g de alcohol anhidro

Fuente: (Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 374, 2015)

3.8. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Según las Normas Técnicas Ecuatorianas INEN 2337 y 2802, especifican los métodos para el recuento de coliformes totales, así como para el recuento de mohos y levaduras.

La Tabla 9 muestra los requisitos microbiológicos para los jugos, pulpas, concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales en productos pasteurizados de acuerdo con la NTE INEN 2337 (2008).

Tabla 9. Requisitos microbiológicos para productos pasteurizados.

	n	M	M	c	Método de ensayo
Coliformes NMP/cm ³	3	<3	-	0	NTE INEN 1529-6
Coliformes fecales NMP/cm ³	3	<3	-	0	NTE INEN 1529-8
Recuento estándar en placa REP UFC/cm ³	3	<10	10	1	NTE INEN 1529-5
Recuento de mohos y levaduras UP/cm ³	3	<10	10	1	NTE INEN 1529-10

Fuente: (Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2337, 2008)

En la Tabla 10 se observa los requisitos microbiológicos para el recuento de mohos y levaduras en bebidas fermentadas de acuerdo a la NTE INEN 2802.

Tabla 10. Requisitos microbiológicos para bebidas fermentadas.

Requisitos	Unidad	Máximo	Método de ensayo
Mohos y levaduras ^a	UFC/mL	10	NTE INEN 1529-10
Salmonella ^b		Ausencia en 25 mL	NTE INEN 1529-15

^a Cocteles o bebidas alcohólicas mixtas o aperitivos elaborados con vino o cerveza.

^b Cocteles o bebidas alcohólicas mixtas o aperitivos que tengan huevo, leche o chocolate.

Fuente: (Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2802, 2015)

CAPÍTULO IV.

4. RESULTADOS

4.1. ELABORACIÓN DE LA BEBIDA FERMENTADA Y DISEÑO CENTRAL COMPUESTO.

A partir de la combinación de las variables temperatura a 50, 60 y 70°C; concentración de ácido cítrico al 0,3; 0,6 y 0,9%, se logró determinar un total de trece tratamientos experimentales. Las cantidades que a continuación se mencionan corresponden a los valores totales añadidos tal se muestra en el (Anexo 1), estos valores se dividieron para cada uno de los tratamientos. Se utilizó 5 kg de fruta al inicio de las operaciones, en la etapa de selección hubo un residuo del 27% de fruta de rechazo. En el dosificado se agregó 104 litros de agua tratada a temperaturas y ácido cítrico en las concentraciones indicadas anteriormente. El residuo en la etapa de pelado fue del 20% de cáscara, el orito pelado se colocó en una licuadora doméstica con agua preparada por 5 minutos obteniendo una mezcla homogénea que se añadió a los fermentadores, posteriormente se adicionó 31 kg de azúcar y 104 g de levadura para la inoculación a 47 °C, se dejó reposar para la fermentación por un período de 8 días. Transcurrido el tiempo de fermentación se filtró para eliminar el 1% de sedimentos y pasar al clarificado donde se adicionó 0,12 g de agar-agar, finalmente se envasó en botellas de vidrio ámbar de 550 cm³ para pasteurizar a 70°C durante 10 minutos sin presionar los corchos realizando el sellado al final del tratamiento térmico. Se dejó en almacenamiento protegido de la luz directa a temperatura de 18°C. Como rendimiento se alcanzó un total de 137, 15 litros de bebida fermentada.

En la Tabla 11, se indica el número de tratamientos, especificando las concentraciones de ácido cítrico y temperaturas combinadas en la elaboración de la bebida fermentada de orito.

Tabla 11. Diseño Central Compuesto.

TRATAMIENTOS	TEMPERATURA	% ÁCIDO CÍTRICO
1	70	0,6
2	60	0,6
3	60	0,6
4	60	0,9
5	70	0,3
6	60	0,6
7	70	0,9
8	60	0,3
9	50	0,9
10	50	0,3
11	60	0,6
12	50	0,6
13	60	0,6

Fuente: Autores

4.2. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

4.2.1. MÉTODO FOLIN CIOCALTEAU

La actividad polifenólica se evaluó utilizando el método de Folin Ciocalteu, se aplicó en muestras de pulpa de banano orito y de la bebida fermentada en el día 1 y en el día 8 respectivamente, donde se observó la presencia de compuestos fenólicos totales en todos los tratamientos. En la tabla 12 se muestran los resultados de la cuantificación polifenoles por el método de Folin-Ciocalteu en el día 1 expresados en mg/ml de ácido gálico. Los valores obtenidos de los compuestos fenólicos están en un rango de 2,561 a 9,782 mg/ml, por lo tanto, existe presencia de compuestos fenólicos en las muestras de pulpa de orito.

Tabla 12. Valores de absorbancia versus concentración de ácido gálico de los tratamientos estudiados en el día 1.

Tratamientos	Absorbancia	Concentración (mg/ml)	pH
T0	0,033	4,877	3
T1	0,039	5,695	3
T2	0,035	5,15	2
T3	0,024	3,651	3
T4	0,048	6,921	3
T5	0,03	4,469	2
T6	0,026	3,924	3
T7	0,016	2,561	3
T8	0,069	9,782	3

Fuente: Laboratorio de Química. UEA

En la tabla 13 se observa los resultados correspondientes a la cuantificación polifenoles por el método de Folin-Ciocalteu expresados mg/ml de ácido gálico. Los valores de concentración para los polifenoles totales en el día ocho están comprendidos en un rango de 2,711 a 4,888 mg/ml, por lo tanto, los tratamientos con mayor presencia de compuestos fenólicos son T0 y T3 de la bebida fermentada de pulpa de banano orito.

Tabla 13. Valores de absorbancia versus concentración de ácido gálico de los tratamientos estudiados en el día 8.

Tratamientos	Absorbancia	Concentración (mg/ml)	pH
T0	0,356	4,888	2
T1	0,25	3,444	3
T2	0,02	2,711	3
T3	0,336	4,616	3
T4	0,285	3,921	2
T5	0,23	3,172	3
T6	0,295	3,057	2
T7	0,295	4,057	3
T8	0,243	4,349	2

Fuente: Laboratorio de Química. UEA

En la Figura 6 se muestra que los tratamientos T0 y T3 presentan una concentración de ácido gálico más alta en cuanto a actividad polifenólica.

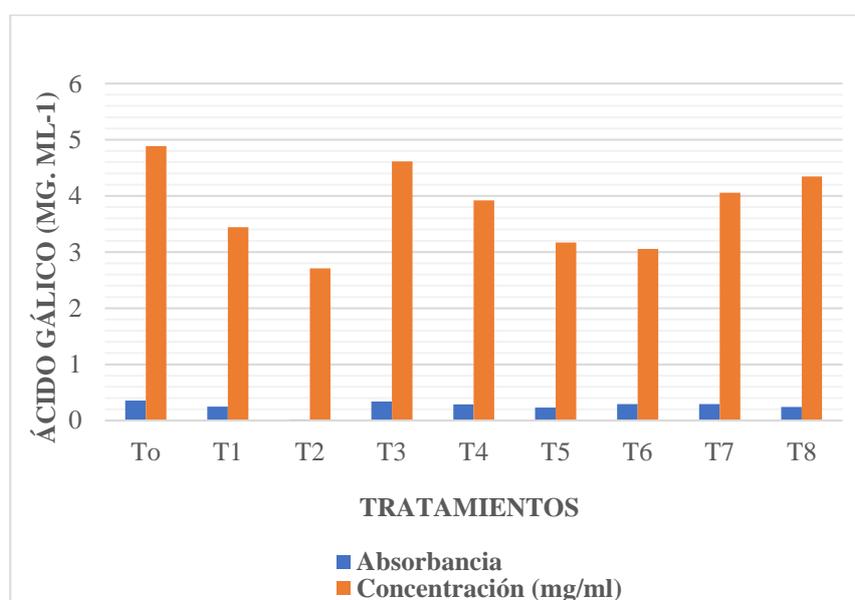


Figura 6. Valores de actividad polifenólica expresado en mg.ml⁻¹ de ácido gálico en los tratamientos estudiados. Día 8.

En la Tabla 14, se detalla el DCC y los valores obtenidos con respecto al contenido de fenoles totales en mg de ácido gálico por ml de la bebida fermentada de orito a los ocho días de fermentación, los resultados se presentaron con valores mínimos de 2,711 y valores máximos de 4.888 seguido por 4.616 correspondientes a los tratamientos con mayor cantidad de fenoles totales.

Tabla 14. Diseño Central Compuesto para el efecto de temperatura y porcentaje de ácido cítrico sobre contenido de fenoles totales por el método de Folin. Bebida fermentada de orito.

TRATAMIENTOS	TEMPERATURA	% ÁCIDO CÍTRICO	FOLIN
1	70	0,6	4,888
2	60	0,6	3,444
3	60	0,6	3,444
4	60	0,9	2,711
5	70	0,3	4,616
6	60	0,6	3,444
7	70	0,9	3,921
8	60	0,3	3,172
9	50	0,9	3,057
10	50	0,3	4,057
11	60	0,6	3,444
12	50	0,6	4,349
13	60	0,6	3,444

Fuente: Autores

Mediante el uso del método de superficie de respuesta, el análisis de varianza determinó el nivel de significancia de los factores estudiados (temperatura y % de ácido cítrico) al 95% de confianza. Siendo altamente significativos en relación a los demás valores experimentales (Tabla 15).

Tabla 15. ANOVA para el DCC de la bebida fermentada de orito.

Variables	SC	GL	MC	F Valor	p-valor	
Modelo	4.76	5	0.95	75.50	< 0.0001	Significativo
A-Temperatura	0.64	1	0.64	50.92	0.0002	
B-Ácido cítrico	0.77	1	0.77	61.48	0.0001	
AB	0.023	1	0.023	1.85	0.2164	
A ²	3.20	1	3.20	253.95	< 0.0001	
B ²	1.00	1	1.00	79.07	< 0.0001	

Fuente: Desing-Expert Software

A continuación, se presenta la ecuación final en términos de factores reales del modelo matemático para determinación Fenoles Totales.

$$\begin{aligned}
 \text{Capacidad antiox.} = & \\
 & +3.47203 \\
 & +0.32700 * \text{Temperatura} \\
 & -0.35933 * \text{Ácido cítrico} \\
 & +0.076250 * \text{Temperatura} * \text{Ácido cítrico} \quad (2) \\
 & +1.07638 * \text{Temperatura}^2 \\
 & -0.60062 * \text{Ácido cítrico}^2
 \end{aligned}$$

La distribución de los puntos relaciona la capacidad del modelo de superficie de respuesta con el valor de R^2 0.9818, R^2 predicho 0.8344 y R^2 ajustado 0.9688. Demostrando así que el 98,18% se relacionó con las variables sometidas a estudio en la extracción de Fenoles Totales. Ambos valores, predicho y experimental se compararon como se muestra en la figura 7.

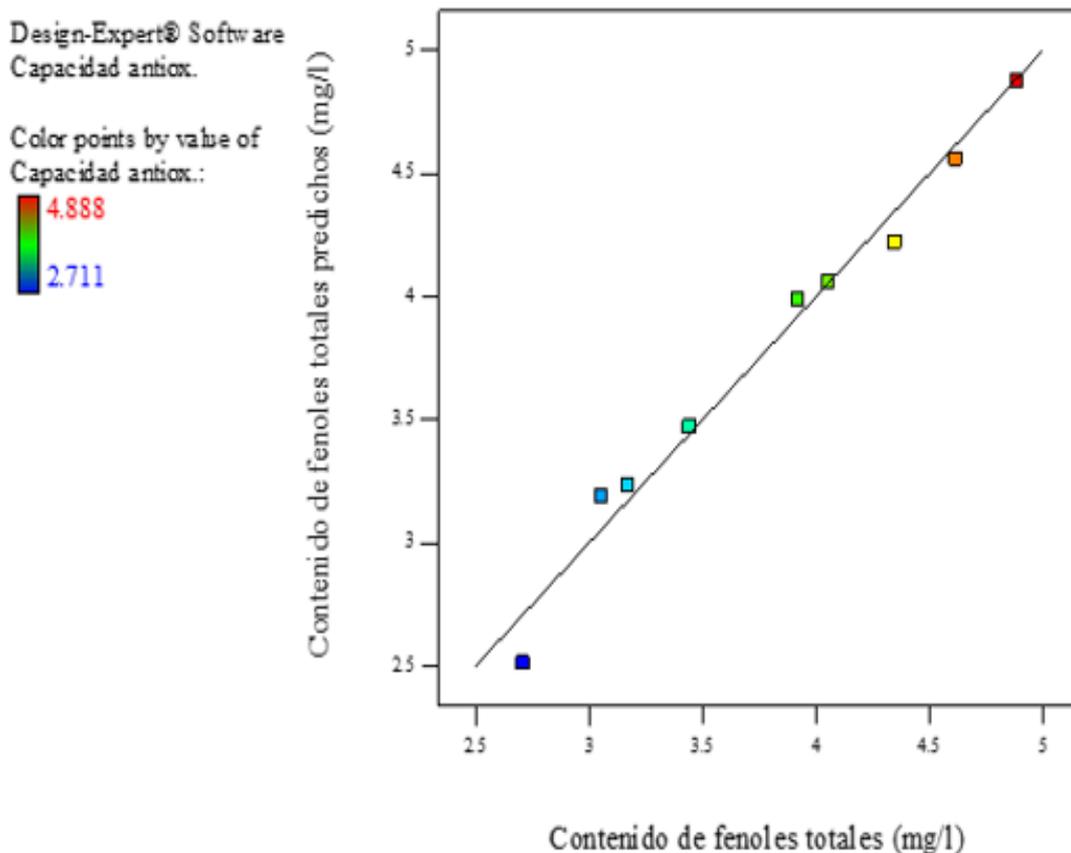


Figura 7. Modelo cuadrático relación predicha y experimental de Fenoles totales.

La figura 8 muestra los gráficos de superficie de respuesta y de contorno que expresan los efectos de la temperatura y porcentaje de ácido cítrico con relación a los compuestos polifenólicos totales.

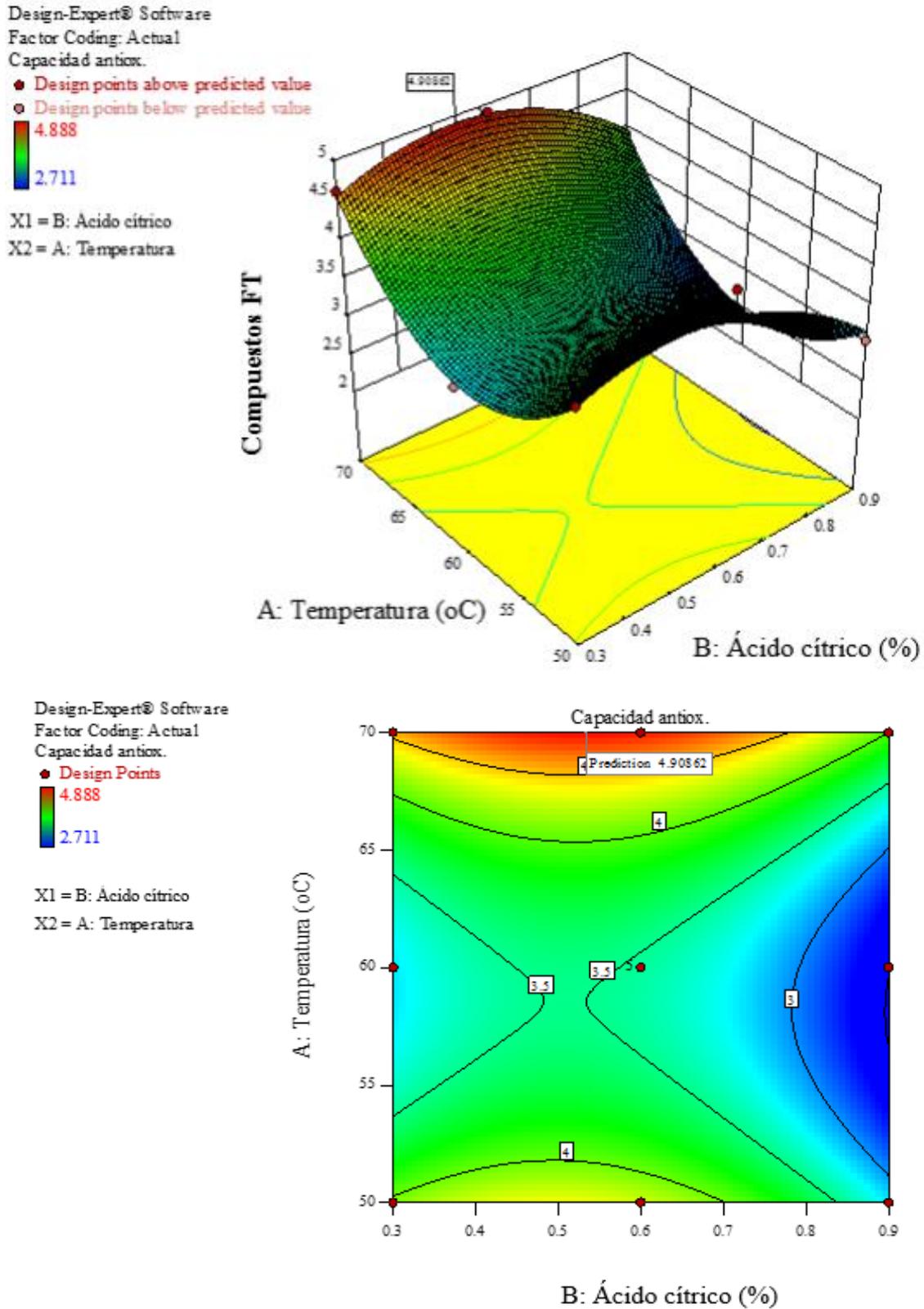
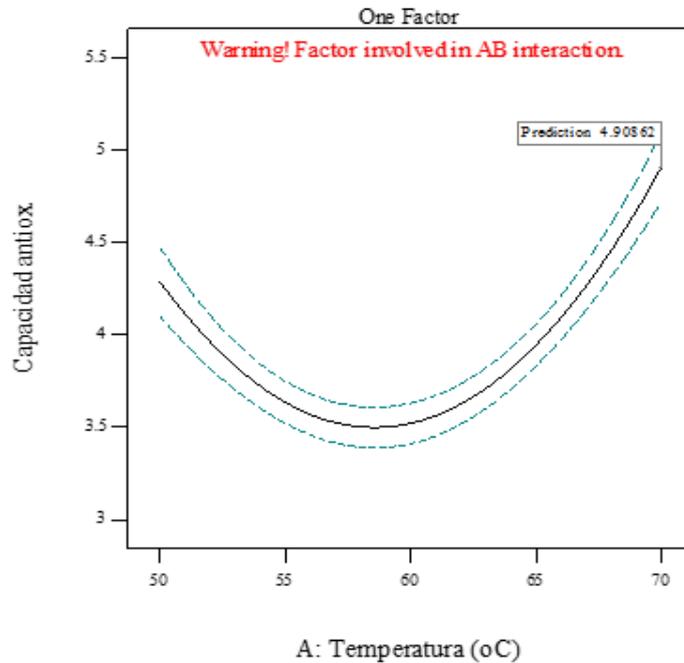


Figura 8. Gráfico de superficie de respuesta (arriba) y el gráfico de contorno (abajo).

En la interacción de los factores temperatura y concentración de ácido cítrico se observa que a temperaturas inferiores a 60°C hay un ligero aumento de contenido fenoles totales (FT), mientras a temperaturas superior a 60°C el contenido FT aumenta notablemente, por otro lado, a concentraciones de ácido cítrico en un rango de 0.3 a 0.6% los FT aumentan y superiores al 0,6% la actividad polifenólica disminuye como se observa en la figura 9.

Design-Expert® Software
 Factor Coding: Actual
 Capacidad antiiox.
 — 95% CI Bands
 X1 = A: Temperatura
 Actual Factor
 B: Ácido cítrico = 0.53408



Design-Expert® Software
 Factor Coding: Actual
 Capacidad antiiox.
 ● Design Points
 — 95% CI Bands
 X1 = B: Ácido cítrico
 Actual Factor
 A: Temperatura = 70

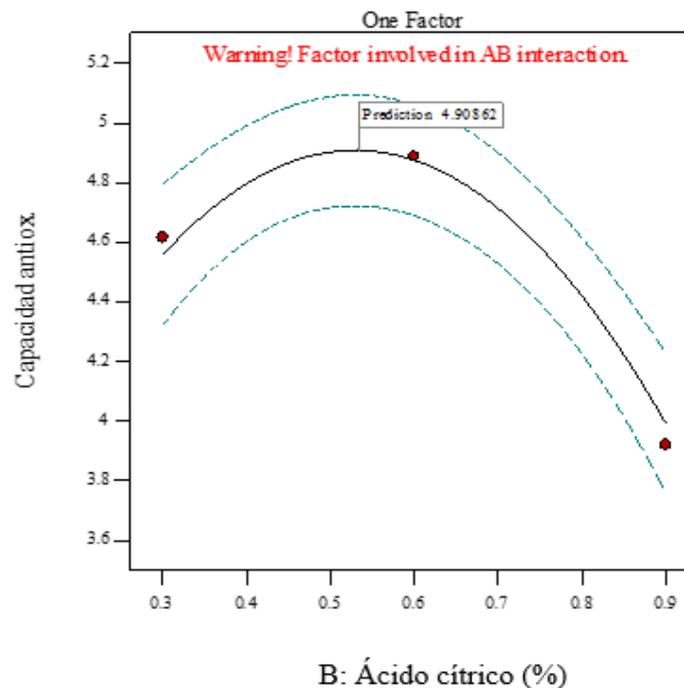


Figura 9. Gráfico de interacción temperatura (arriba) y de ácido cítrico (abajo).

Desde la optimización se encontró que a 70° C y 0,534 % ácido cítrico se logró extraer mayor cantidad de compuestos fenólicos de la bebida fermentada con un valor predicho de fenoles totales de 4.909 mg /ml de ácido gálico, se ejecutó la validación experimental del modelo determinando que las muestras sometidas a las condiciones óptimas de extracción se obtiene concentraciones de fenoles totales de 4.888 mg.ml⁻¹ de ácido gálico que al ser comparado con el valor predicho resulta ser un valor muy cercano de acuerdo con la metodología de superficie de respuesta (Tabla 16).

Tabla 16. Valores óptimos predichos y experimentales, adquiridos en el proceso de optimización.

	Valor predicho MSR	Valor experimental
Temperatura	70°C	70°C
(%) ácido cítrico	0.534	0.6
Fenoles Totales (mg.ml ⁻¹ de ácido gálico)	4.909	4.888

Fuente: Desing-Expert Software

4.2.2. MÉTODO FRAP Y ABTS

Mediante los métodos de FRAP y ABTS se obtuvo los resultados de la actividad antioxidante a los 8 días de fermentación de la bebida de pulpa de banano orito (*Musa acuminata* AA).

En la Tabla 17 se muestra los resultados del contenido en polifenoles totales mediante la técnica de FRAP en la que se obtuvo una concentración de Trolox para T0 de 2,889 mg/ml y T3 de 3,959 mg/ml y en la evaluación de las muestras por el método de ABTS se obtuvo valores para T0 de 37,048 mg/ml y T3 de 38,301 mg/ml por lo tanto en comparación de ambos métodos T3 obtuvo las más altas concentraciones de Trolox en cuanto a actividad antioxidante total.

Tabla 17. Valores de absorbancia versus concentración de Trolox de los mejores tratamientos.

Tratamientos	FRAP		ABTS	
	Absorbancia	Concentración (mg/ml)	Absorbancia	Concentración (mg/ml)
T0	0,543	2,889	0,751	37,048
T3	0,744	3,959	0,728	38,301

Fuente: Laboratorio de Química. UEA

En la Figura 10 se puede observar que los tratamientos T0 y T3 presentan una concentración de Trolox más alta en cuanto a actividad antioxidante total al ser evaluados mediante el método ABTS.

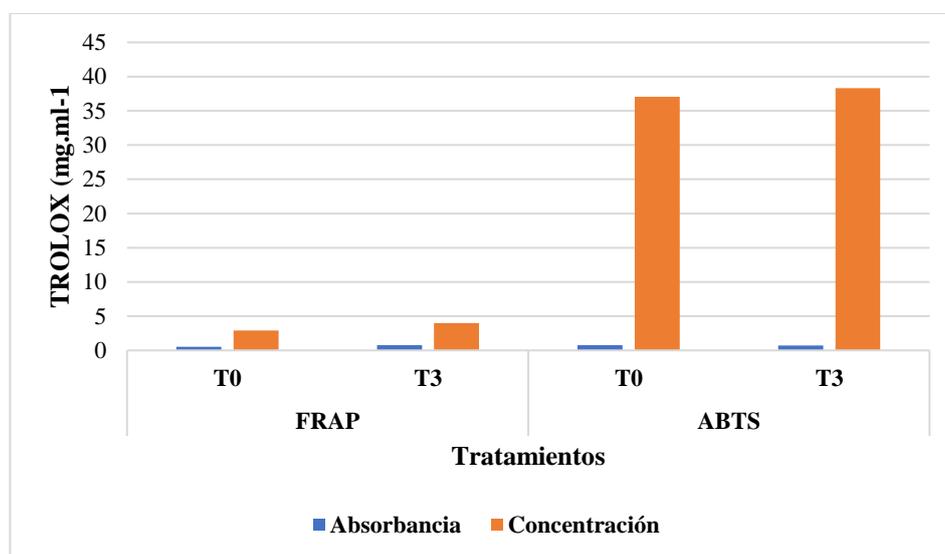


Figura 10. Valores de absorbancia versus concentración de Trolox de los tratamientos seleccionados.

4.3. EVALUACIÓN SENSORIAL

Los resultados de la evaluación sensorial realizada a la bebida fermentada de pulpa de banano orito, con 30 panelistas no entrenados estudiantes y docentes de la Universidad Estatal Amazónica, proporcionaron datos que fueron ingresados al programa estadístico INFOSTAT (Anexo 17) y mediante la prueba de Kruskal Wallis se determinó que entre los tratamientos existe diferencia significativa en cuanto al sabor. Sin embargo, no presentó diferencias significativas en los demás atributos evaluados. En la Tabla 18 se puede observar el resumen de los resultados.

Tabla 18. Resumen de las medianas de los tratamientos por atributo. Prueba de Kruskal Wallis.

Atributos	Tratamientos		Valor P
	T ₀	T ₃	
Color	4	4	0,3908
Aroma	4	4	0,3735
Sabor	4,5	5	0,0023

Fuente: INFOSTAT

COLOR

En cuanto a la evaluación del color no presentó diferencias significativas entre los tratamientos, debido a que se obtuvo para el primer tratamiento T0 una media de 4,30 puntos y una mediana de 4 dando como resultado que “gusta”, y el tratamiento T3 obtuvo una valoración de la media de 4.20 y una mediana de 4, a lo que refiere de igual manera que “gusta”, de acuerdo a la escala hedónica utilizada (Anexo 14).

AROMA

En cuanto a la evaluación del aroma no existe diferencia significativa entre los tratamientos, debido a que en el primer tratamiento T0 se obtuvo una media de 4,14 puntos y una mediana de 4 dando como resultado que “gusta”, y para el tratamiento T3 se obtuvo una valoración de la media de 4.21 y una mediana de 4, a lo que refiere de igual manera que “gusta” (Anexo 15).

SABOR

La evaluación del sabor presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) para el primer tratamiento T0 se obtuvo un promedio de 4,37 puntos y con una mediana de 4,50 siendo el de menor aceptación por parte de los catadores con una puntuación de “me gusta”. Seguido por el tratamiento T3 con una media de 4,63 y mediana de 5 lo que equivale a “me gusta mucho” en la escala hedónica utilizada, por lo tanto, fue el tratamiento que obtuvo mayor aceptación por parte de los catadores (Anexo 16).

4.4. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS

GRADOS BRIX

Los sólidos solubles del banano orito corresponden a 18 °Brix según los datos reportados por Peñafiel (2017), mientras que los resultados obtenidos antes de la fermentación fueron de 24 °Brix para todos los tratamientos, después de la fermentación alcohólica se midió °Brix de los tratamientos con mayor compuestos fenólicos, en la Tabla 19 se muestra los valores obtenidos de los tratamientos T0 y T3 en la que se puede observar que el consumo de la cantidad de azúcares durante el proceso de la fermentación fue mínimo para ambos tratamientos.

Tabla 19. Grados °Brix antes y después de la fermentación.

Tratamientos	°Brix inicial	°Brix final
T₀	24	23
T₃	24	22

Fuente: Laboratorio de Agroindustrias. UEA

pH

La Tabla 20 indica los valores que se obtuvieron antes y después de la fermentación, encontrándose en una escala de pH de moderadamente ácido. El pH en los vinos de frutas puede variar entre un rango de 2.8 a 4 según lo establece la Norma Técnica Colombiana 708, en los vinos blancos se encuentra aproximadamente entre 3.0 – 3.3, mientras que para un vino tinto puede estar entre 3.3 y 3.6 (Tenorio et al., 2014). De acuerdo con los resultados obtenidos se puede observar que T₀ y T₃ en la etapa previa a la fermentación estuvieron dentro del rango establecido por la NTC 708 y en la etapa final de fermentación T₃ cumple con los parámetros, mientras que T₀ tiene un pH inferior a 3.0 dando como resultado una bebida poco agradable al paladar.

Tabla 20. pH de la bebida fermentada de pulpa de banano orito.

Tratamientos	pH inicial	pH final	pH NTC 708
T₀	3	2	2,8 – 4
T₃	3	3	

Fuente: Laboratorio de Agroindustrias. UEA

GRADO ALCOHÓLICO

La cantidad de alcohol extraída posterior al proceso de fermentación indica si la bebida puede considerarse alcohólica, el resultado obtenido de la medición de grados de alcohol tras la destilación se encuentra en 15°Gay Lussac para el tratamiento T₃. Según la NTE INEN 374 establece un mínimo de 5% y un máximo del 18% de alcohol en bebidas alcohólicas de frutas, de esta manera la bebida fermentada de banano se encuentra dentro del rango señalado en la norma.

ACIDEZ TOTAL

El análisis físico-químico de acidez según la NTE INEN 374 indica un máximo de 1,5 g/L de acidez para bebidas alcohólicas, se realizó el análisis de los tratamientos T0 y T3 en donde se obtuvo los siguientes resultados: para T0 la acidez está en un rango de 0,21 y para T3 está en un rango de 0,24 g/L de acidez, ambos tratamientos cumplen con los parámetros establecidos en la Norma INEN 374. En la Tabla 21 se muestra los resultados de acidez en la bebida fermentada de pulpa de banano orito.

Tabla 21. Resultados de acidez en la bebida fermentada de pulpa de banano orito.

Tratamientos	Acidez (g/L)	Acidez (g/L) NTE INEN 341
T0	0,21	1,5 Max
T3	0,24	

Fuente: Laboratorio de Química. UEA

4.5. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

En la Tabla 22 se presentan los resultados de las pruebas microbiológicas de la bebida fermentada de pulpa de banano orito. Se efectuó el recuento de hongos y levaduras y recuento de Coliformes totales, de acuerdo con la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2337 (2008), el recuento de Coliformes totales se encuentra en un nivel de aceptación (<3 NMP/cm³) así como la presencia de hongos y levaduras según la NTE INEN 2802 y NTE INEN 2337 debe estar en un máximo de (<10 UFC/ml). Se realizó el análisis a los dos mejores tratamientos dando como resultado para T0 valores en hongos (<4 UFC), levaduras (<10 UFC), coliformes (<1 UFC) y para T3 en hongos (<3UFC), levaduras (<8 UFC), ausencia de coliformes, por lo tanto, de acuerdo con los resultados obtenidos y en comparación con la norma, el recuento de hongos y levaduras, así como de Coliformes totales para ambos tratamientos analizados están dentro de los límites máximos permisibles (Anexo 3).

Para el caso de bebidas fermentadas o vino de frutas no se encontró una normativa que especifique los límites máximos permisibles para Coliformes totales razón por la cual se comparó los resultados de esta investigación con la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2337, la cual establece requisitos microbiológicos para los jugos, pulpas, concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales específicamente en productos pasteurizados.

Tabla 22. Resultados de mohos y levaduras, Coliformes totales en la bebida fermentada de pulpa de banano orito.

DATOS GENERALES		PARAMETROS				
Fecha	Tipo de muestra	Levaduras	Hongos	Coliformes Totales	<i>E. coli</i>	Resultados
02/12/2019	T ₀	<10 UFC	<4 UFC	<1 UFC	Nd	Cumple
02/12/2019	T ₃	<8 UFC	<3 UFC	<0UFC	Nd	Cumple

Fuente: Laboratorio de Microbiología. UEA

CAPÍTULO V.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- En la elaboración de la bebida fermentada, el tratamiento T0 a temperatura de 70°C y a concentración de 0,6% de ácido cítrico, así como el tratamiento T3 a 60 °C a concentración de 0,9% de ácido cítrico, conservaron las características organolépticas del banano orito, no se visualizó pardeamiento enzimático en las posteriores operaciones.
- La actividad antioxidante se determinó con muestras de la bebida tomadas a los 8 días de fermentación mediante el método de Folin, los mejores tratamientos resultantes: T0 (4,888 mg/L) y T3 (4,616 mg/L), mediante el análisis MSR demuestra el aumento de fenoles totales con los factores temperatura superior a 60°C y concentraciones de ácido cítrico entre un rango de 0.3 a 0.6%, posteriormente se aplicaron los métodos de FRAP Y ABTS donde se pudo verificar que el tratamiento T3 sobre el T0 tuvo mayor actividad antioxidante total.
- El análisis sensorial según la escala hedónica aplicada a los 30 panelistas con 3 réplicas y la posterior utilización de la Prueba de Kruskal Wallis, determinó que el tratamiento T3 en relación al T0, en los parámetros de color y aroma no se encontró diferencia significativa, mientras que el parámetro de sabor tuvo diferencia significativa para el T3 alcanzando un “me gusta mucho”, siendo el más aceptable por los panelistas. Por lo tanto, se concluye que el tratamiento T3 con las variables de 60°C y 0,9% de ácido cítrico influyeron positivamente en la bebida.
- El análisis físico-químico según la NTE INEN 374 indica un máximo de 1,5 g/L de acidez total, de los dos tratamientos se obtuvo un promedio 0,2 g/L de acidez. El grado alcohólico se encuentra en 15 grados Gay Lussac. Según los requisitos microbiológicos establecidos en la NTE INEN 2208, T0 contiene <10 UFC/ml levaduras, 4 UFC hongos, y 1 UFC Coliformes totales mientras que T3 contiene 8 UFC/ml levaduras, 3 UFC hongos y ausencia de Coliformes totales, ambos tratamientos se encuentran en el nivel máximo permisible.

5.2. RECOMENDACIONES

- Verificar el estado de madurez grado cinco de preferencia, del banano orito para obtener un mayor porcentaje de solidos solubles que puedan ser consumidos en la etapa de fermentación, reduciendo de esta manera el uso elevado de azúcar refinada.
- Usar ácido cítrico por su accesibilidad económica para los fines investigativos.
- Realizar la evaluación de costos para la elaboración de la bebida fermentada de orito que permita extender el uso del fruto en productos derivados.

CAPÍTULO VI.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez, R. (2018). *Propagación (In Situ) Vegetativa de Banano Orito (Musa acuminata AA) con la utilización de la Bencilaminopurina (6-BAP) en el Cantón Valencia*. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Retrieved from <http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/3246/1/T-AGROP-UTEQ-00102.pdf>
- Carrera, S. (2015). *Estudio sobre la aplicación de macro y microelementos con acondicionadores de suelos en banano orito (Musa acuminata AA)*. (Ingeniero Agronomo Tesis de grado). Universidad de Guayaquil, Ecuador. Retrieved from <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/7340/1/TESIS%20STALIN%20CARRERA.pdf>
- Cedeño, J., & Duarte, H. (2017). Exportación de baby banana (banana Orito) al mercado de Alemania. *Revista Observatorio Economía Latinoamericana*. Retrieved from <http://www.eumed.net/cursecon/ecolat/ec/2017/exportacion-banana.html>
- Cofré-Martínez, A. (2015). *Determinación de Polifenoles Totales, Actividad Antioxidante y Antocianinas de Jugo de Murtilla (Ugni molinae Turcz) obtenido por Condensación de Vapor* Universidad Austral de Chile Valdivia-Chile Retrieved from <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2015/fac675d/doc/fac675d.pdf>
- Costa, D., Rodriguez, W., Silva, G., Santos, L., & Lizarazo, E. (2018). Aplicación y efecto antioxidante del ácido gálico sobre la calidad de semillas de trigo. *Revista de Ciencias Agrarias*, vol. 42(1). Retrieved from <http://www.scielo.mec.pt/pdf/rca/v42n1/v42n1a03.pdf>
- De la Guerra, L. (2015). *Plan de negocio para la comercialización de Banano Orito (Musa Acuminata) Recinto Manguila Chico, Cantón la Maná, Año 2015*. (Ingeniera en Gestión Empresarial Proyecto de Investigación). Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Los Ríos - Ecuador. Retrieved from <http://190.15.134.12/bitstream/43000/1424/1/T-UTEQ-0239.pdf>
- El banano orito despunta en los mercados. (2014). *Revista El Agro*, 12-13. Retrieved from https://issuu.com/revistasuminasa/docs/revista_el_agro-edicion213
- Govea, M., Zugasti, A., Silva, S., Urdiales, B., Rodríguez, R., Aguilar, C., & Morlett, J. (2013). Actividad Anticancerígena del Ácido Gálico en Modelos Biológicos in vitro. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, vol. 5. Retrieved from

- <http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.%209/2.%20Govea%20Sallas.pdf>
- Guerrero, D., Gallo, C., Merino, B., Nuñez, E., Ramírez, A., & Reyes, M. (2012). *Diseño de la línea de producción de licor a partir del banano de descarte*. Universidad de Piura, Piura. Retrieved from <https://pirhua.udpe.edu.pe/bitstream/handle/11042/2348/PYT%20Informe%20final%20Bahana%20Club%20v1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. (2017). Índice de publicación ESPAC 2017. Retrieved from www.ecuadorencifras.gob.ec/espac/Indice_de_publicacion_ESPAC_2017
- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. (2018). Tabulados de la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua ESPAC 2018 Retrieved from <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/web-inec/espac/espac-2018>
- Morante, J., Agnieszka, A., Bru-Martínez, R., Carranza, M., Pico, R., & Nieto, E. (2014). Distribución, localización e inhibidores de las polifenol oxidasas en frutos y vegetales usados como alimento. *Revista de Ciencia y Tecnología*. Retrieved from http://www.uteq.edu.ec/revistacyt/publico/archivos/C2_Doc2.pdf
- Muñoz, A., Sáenz, A., López, L., Cantú, L., & Barajas, L. (2014). Ácido Cítrico: Compuesto Interesante *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila, Vol. 6*. Retrieved from <http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.%2012/4.pdf>
- National Institutes of Health. (2016). Datos sobre la vitamina E. Retrieved from <https://ods.od.nih.gov/pdf/factsheets/VitaminE-DatosEnEspanol.pdf>
- Nieto, C., & León, M. (2015). *Viabilidad de una cooperativa exportadora de orito orgánico de pequeños productores en la zona de Bucay – Guayas*. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Retrieved from <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/3235/1/T-UCSG-PRE-ESP-CFI-159.pdf>
- Norma Técnica Colombiana 708. (2000). Bebidas alcohólicas. Vino de frutas Retrieved from https://kupdf.net/download/ntc-708-vinos-de-frutas_5b29e65ee2b6f5ec32a03c7f_pdf
- Norma Técnica Ecuatoriana INEN 341. (1978). Bebidas alcohólicas determinación de la acidez.

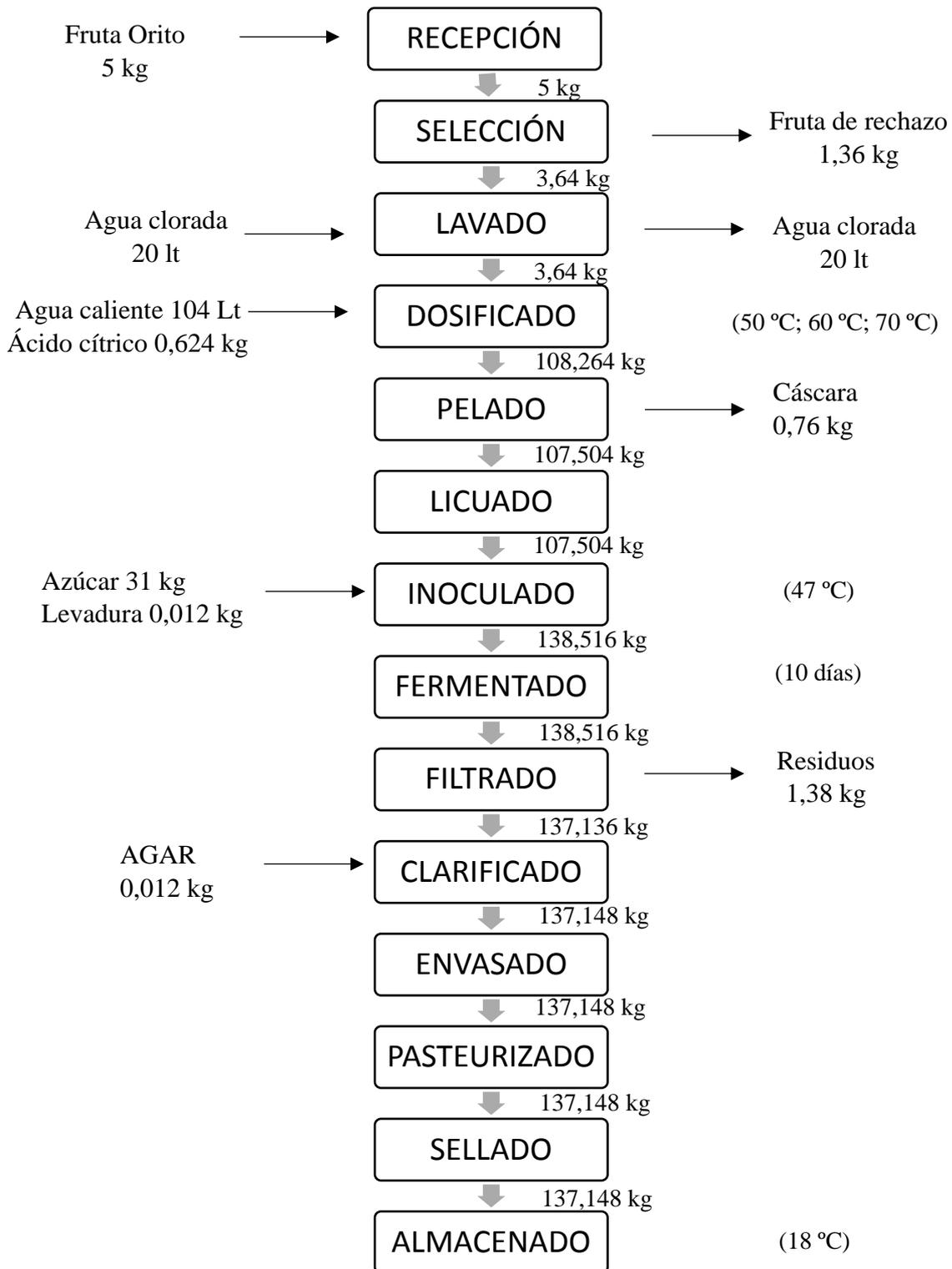
- Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2337. (2008). Jugos, pulpas, concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales. Requisitos. Retrieved from <https://archive.org/stream/ec.nte.2337.2008#mode/2up>
- Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 340. (2016). Bebidas alcoholicas. Determinacion del contenido de alcohol etílico. Método de alcoholímetro de vidrio.
- Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 374. (1987). Bebidas alcohólicas. Vino de Frutas.
- Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 374. (2015). Bebidas alcohólicas. Vino de Frutas. Requisitos.
- Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 380. (1986). Conservas vegetales. Determinación de sólidos solubles. Método refractométrico. Retrieved from <https://archive.org/stream/ec.nte.0380.1986#mode/2up>
- Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2802. (2015). Bebidas Alcoholicas. Cocteles o bebidas alcoholicas mixtas y los aperitivos.
- Peñafiel, Y. (2017). *Evaluación del efecto del efecto del método químico (Eritorbato de Sodio), físico (Escaldado) y el proceso de secado sobre pardeamiento enzimático y no enzimático de orito Musa acuminata AA rebanados*. Universidad Tecnica del Norte, Ibarra-Ecuador. Retrieved from <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/6537/1/03%20EIA%20438%20TRABAJO%20DE%20GRADO.pdf>
- Piedra, F. (2017). Control del pardeamiento enzimático en manzanas cortadas (Red delicious) mediante un sistema de envasado activo. *SciELO*, vol. 8, 1-12.
- Pro Ecuador. (2017). Boletín Mensual de Comercio Exterior Abril 2017. Retrieved from https://issuu.com/pro-ecuador/docs/bce_abril
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9), 1231-1237. doi:[https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Salau, L. (2015). *Manejo Poscosecha de Banano "Orito" (Musa acuminata) hasta un Centro de Acopio en Época de Verano en el Cantón Bucay, Provincia del Guayas*. Escuela Superior Politécnica del Litoral, Retrieved from <http://www.dspace.espol.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/123456789/30357/D-88078.pdf?sequence=-1&isAllowed=y>
- Sélles, S. (2007). *Pardeamiento enzimático del fruto de nispero (Eriobotrya japonica cv. Algerie): enzimología y fisiología de las polifenol oxidasas*. (Tesis de Doctorado).

- Universidad de Alicante, Retrieved from https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/4085/1/tesis_doctoral_susana_selles.pdf
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158. Retrieved from <https://www.ajevonline.org/content/ajev/16/3/144.full.pdf>
- Tabla de composición de los alimentos ecuatorianos. (1975). Retrieved from <https://es.scribd.com/doc/22515896/Tabla-de-Composicion-de-Alimentos>
- Tenorio, M. D., Mateos-Aparicio, I., Prádena, J., García, M., Pérez, M., Redondo, A., . . . Zapata, M. A. (2014). *El vino y su análisis*. Universidad Complutense de Madrid, Retrieved from <https://eprints.ucm.es/29446/7/PIMCD%20N%C2%BA%20243.%20ANEXO%201.%20E-BOOK-%20EL%20VINO%20Y%20SU%20AN%C3%81LISIS.pdf>
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 669-675. doi:10.1016/j.jfca.2006.01.003
- Villalva, J. (2017). *Utilización de Fundas Impregnadas con Neem X, para el Manejo del Tripsen Orito en el Recinto Argentina del Cantón Cumandá*. Universidad Técnica de Ambato, Retrieved from <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/24869/1/tesis%202017%20Ingenier%C3%ADa%20Agropecuaria%20-%20Villalva%20Flores%20Jos%C3%A9%20Fidel%20-%20cd%202017.pdf>
- Watts, B., Ylimaki, G., Jeffery, L., & G. Elías, L. (1992). *Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos*(pp. 8-9). Retrieved from https://www.academia.edu/5193414/M%C3%A9todos_sensoriales_b%C3%A1sicos_para_la_evaluaci%C3%B3n_de_alimentos

CAPÍTULO VII.

7. ANEXOS

Anexo 1. Diagrama de bloques de la elaboración de una bebida fermentada de pulpa de banana orito.



Anexo 2. Formato de encuesta aplicada en evaluación sensorial.



**UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA TIERRA
INGIENERIA AGROINDUSTRIAL**



Tema: “Evaluar el contenido de antioxidantes en una bebida fermentada de pulpa de banano orito (*Musa acuminata* AA)”

Fecha: _____

Objetivo: Evaluar el producto para saber si tiene o no aceptación.

ESCALA: Me gusta mucho = 5, Me gusta poco = 4, Ni gusta ni disgusta = 3, Me disgusta poco = 2, Me disgusta Mucho = 1

De acuerdo a la Escala Hedónica de 5 puntos, califique los parámetros de color, aroma y sabor de las muestras que se presentan:

COLOR

ESCALA	MUESTRAS	
	139	408
Me gusta mucho		
Me gusta		
Ni gusta ni disgusta		
Me disgusta		
Me disgusta Mucho		

AROMA

ESCALA	MUESTRAS	
	139	408
Me gusta mucho		
Me gusta		
Ni gusta ni disgusta		
Me disgusta		
Me disgusta Mucho		

SABOR

ESCALA	MUESTRAS	
	139	408
Me gusta mucho		
Me gusta		
Ni gusta ni disgusta		
Me disgusta		
Me disgusta Mucho		

COMENTARIOS:

GRACIAS

Anexo 3. Informe de resultados del análisis microbiológico realizado a la bebida fermentada de pulpa de banano orito.

**LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA
UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZONICA**



Dirección: PUYO
 Fecha: 02 diciembre del 2019
 Tipo de muestra: Bebida Fermentada de Orito
 Número de muestra: 2 muestras

DATOS GENERALES		PARAMETROS				
Fecha	Tipo de muestra	Levaduras	Hongos	Coliformes Totales	E. coli	Resultados
02/12/2019	T 0	<10 UFC	<4 UFC	<1 UFC	Nd	Cumple
02/12/2019	T 3	<8 UFC	<3 UFC	<0UFC	Nd	Cumple

Límites Máximos Permisibles			
Coliformes totales	Recuento de Mesófilos	Coliformes Totales	E. Coli
0.3 – 1 < 1/g	<1 ufc/g	<1 NMP/100 ml	<0NMP/100 ml

Fecha de realización del Ensayo.

La muestra fue tomada y recibida por el responsable de la muestra el 2 de diciembre 2019.

Codificación:

*Ufc/ml: unidad formadora de colonias por mililitro

*NMP/100ml: Número más probable de coliformes por 100 mililitro

Atentamente,

Ing. Luis Antonio Díaz M.Sc.
 Lic. 02-17-402
 Técnico Analista

Anexo 4. Elaboración de la bebida fermentada de pulpa de banano orito.

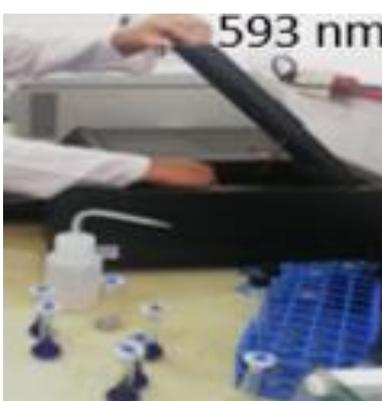




Anexo 5. Evaluación de Polifenoles totales. Método Folin Ciocalteu.



Anexo 6. Evaluación de actividad antioxidante total. Método FRAP.



Anexo 7. Evaluación de actividad antioxidante total. Método ABTS.



Anexo 8. Análisis físico-químicos. Medición de grados Brix.



Anexo 9. Medición de pH.



Anexo 10. Medición de la acidez.



Anexo 11. Destilación para determinación de Grado Alcohólico.



Anexo 12. Evaluación sensorial de los tratamientos con mayor contenido de antioxidantes.



Anexo 13. Análisis microbiológicos (mohos y levaduras, coliformes totales).



Anexo 14. Análisis de la variable color mediante la prueba de Kruskal Wallis.

Variable	Tratamientos	N	Medias	D.E.	Medianas	Promedio rangos	H	p
color	1,00	90	4,30	0,81	4,00	93,57	0,63	0,3908
color	2,00	90	4,20	0,84	4,00	87,43		

Anexo 15. Análisis de la variable aroma mediante la prueba de Kruskal Wallis.

Variable	Tratamientos	N	Medias	D.E.	Medianas	Promedio rangos	H	p
aroma	1,00	90	4,14	0,74	4,00	87,31	0,68	0,3735
aroma	2,00	90	4,21	0,81	4,00	93,69		

Anexo 16. Análisis de la variable sabor mediante la prueba de Kruskal Wallis.

Variable	Tratamientos	N	Medias	D.E.	Medianas	Promedio rangos	H	p
sabor	1,00	90	4,37	0,73	4,50	80,31	6,88	0,0023
sabor	2,00	90	4,63	0,71	5,00	100,69		

Anexo 17. Resultados del análisis sensorial por atributo para los mejores tratamientos.

Nº	T0									T3								
	Color			Aroma			Sabor			Color			Aroma			Sabor		
	R1	R2	R3															
1	5	4	4	4	4	4	5	3	4	4	4	4	5	4	4	5	3	5
2	4	5	5	4	5	4	4	5	5	3	5	4	4	5	4	4	5	5
3	3	5	5	5	5	5	5	5	4	4	5	4	5	5	4	5	5	5
4	5	4	4	5	5	4	4	5	4	4	4	5	4	5	4	5	5	4
5	5	5	5	4	4	5	5	5	3	4	5	4	4	4	5	5	5	5
6	3	4	5	4	4	5	4	4	4	4	5	4	4	5	4	5	5	5
7	4	5	4	4	5	5	4	5	5	4	5	4	4	5	4	4	5	5
8	4	5	5	4	3	4	4	2	5	4	2	5	4	1	5	4	1	5
9	5	3	5	5	3	3	5	4	4	5	3	5	5	2	5	5	3	5
10	4	5	3	5	5	5	5	5	5	4	5	4	4	5	5	4	5	4
11	4	5	3	3	5	4	4	5	4	4	5	4	3	5	4	5	5	5
12	3	3	3	3	4	3	4	5	4	4	3	4	4	5	4	4	5	5
13	4	3	5	4	3	3	3	4	4	3	4	5	3	3	4	4	5	5
14	5	4	4	3	3	4	4	3	5	5	5	5	4	5	4	5	4	5
15	4	5	5	4	4	5	5	3	5	5	4	5	4	2	5	5	3	5
16	4	5	5	3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4	5	5	4	5
17	5	4	3	4	4	4	4	4	5	5	3	3	5	4	5	5	5	5
18	4	4	5	4	5	5	4	5	5	5	4	5	5	5	4	5	5	5
19	4	4	4	3	4	4	4	3	5	3	4	4	3	4	4	4	4	5
20	4	5	5	4	5	3	5	4	4	4	4	5	4	4	4	5	5	5
21	3	5	4	4	5	4	5	5	4	3	4	5	3	4	5	5	4	5
22	3	4	5	5	4	5	4	4	5	3	2	5	5	3	5	3	4	4
23	4	4	5	4	4	4	5	4	4	4	3	5	4	3	5	5	3	5
24	5	5	4	3	3	3	4	4	5	5	5	5	4	5	5	5	5	5
25	5	5	5	4	4	5	5	5	5	5	3	5	5	4	5	5	3	5
26	5	5	4	5	5	3	5	5	3	5	4	4	5	4	3	5	5	5
27	5	1	5	5	3	5	5	4	5	4	1	5	4	5	5	5	5	5
28	5	5	5	4	5	5	3	5	5	4	4	5	4	4	5	5	4	5
29	3	4	3	4	5	4	5	5	5	4	5	3	5	4	3	5	4	5
30	5	4	5	3	4	4	3	4	3	4	5	4	3	4	4	5	5	5