

UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA



CENTRO DE POSTGRADOS

**MAESTRÍA EN AGROINDUSTRIA MENCIÓN SISTEMAS
AGROINDUSTRIALES**

**PROYECTO DE INNOVACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:
MAGÍSTER EN AGROINDUSTRIA**

TEMA:

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANA DEL AJO SACHA *Mansoa alliacea* (Lam) A. H. Gentry Y SU USO POTENCIAL EN LA CONSERVACIÓN DE LA CARNE DE POLLO.”

AUTOR:

Ing. Darío Rafael Hidalgo Núñez

DIRECTOR DEL PROYECTO:

Dra.C. Ana Lucía Chafra M, *PhD*

PUYO – ECUADOR

2018

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS.

Yo, Darío Rafael Hidalgo Núñez con cédula de identidad 1600665721, declaro ante las autoridades educativas de la Universidad Estatal Amazónica, que el contenido del Proyecto de Innovación titulado: **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANA DEL AJO SACHA *Mansoa alliacea* (Lam) A. H. Gentry Y SU USO POTENCIAL EN LA CONSERVACIÓN DE LA CARNE DE POLLO”**, es absolutamente original, auténtico y personal.

En tal virtud y según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente, certifico libremente que los criterios y opiniones que constan en el Proyecto de Investigación y Desarrollo son de exclusiva responsabilidad de la autora; y que los resultados expuestos pertenecen a la Universidad Estatal Amazónica.

Darío Rafael Hidalgo Núñez

C.I. 1600665721

AUTOR



UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA

Centro de Postgrado

AVAL

Quien suscribe Dra.C. Ana Lucía Chafla M, *PhD*, Directora del Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Innovación titulado: “EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANA DEL AJO SACHA *Mansoa alliacea* (Lam) A. H. Gentry Y SU USO POTENCIAL EN LA CONSERVACIÓN DE LA CARNE DE POLLO” a cargo del Ing. DARÍO RAFAEL HIDALGO NÚÑEZ egresado de la primera cohorte de la Maestría en Agroindustria mención Sistemas Agroindustriales de la Universidad Estatal Amazónica.

Certifico haber acompañado el proceso de elaboración del Proyecto de Innovación y considero cumple los lineamientos y orientaciones establecidas en la normativa vigente de la institución por lo que se encuentra listo para ser sustentado.

Por lo antes expuesto se avala el Proyecto de innovación para que sea presentado ante la Dirección de Posgrado como forma de titulación como Magister en Agroindustria mención Sistemas Agroindustriales y que dicha instancia considere el mismo a fin de que tramite lo que corresponda.

Para que a si conste, firmo la presente a los 29 días del mes de octubre de 2018.

Atentamente,

Dra.C. Ana Lucía Chafla M, *PhD*

DIRECTORA DE TESIS



UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA
SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND



Oficio No. 094-IL-UEA-2018

Puyo, 11 de diciembre de 2018

Por medio del presente **CERTIFICO** que:

El trabajo de titulación correspondiente al ING. HIDALGO NUÑEZ DARIO RAFAEL, con C.I. 1600665721, con el Tema: "EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANA DEL AJO SACHA Mansoa alliacea (Lam) A. H. Gentry Y SU USO POTENCIAL EN LA CONSERVACIÓN DE LA CARNE DE POLLO", de la maestría en Agroindustria, mención en Sistemas Agroindustriales, Directora de proyecto Dra. Ana Lucía Chafía M., ha sido revisado mediante el sistema antiplagio URKUND, reportando una similitud del 4%, Informe generado con fecha 11 de diciembre de 2018 por parte de la directora, conforme archivo adjunto.

Particular que comunico a usted para los fines pertinentes

Atentamente,

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

**EL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN DEL PROYECTO DE INNOVACIÓN Y
DESARROLLO CERTIFICA QUE:**

El presente trabajo: “**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y
ANTIMICROBIANA DEL AJO SACHA *Mansoa alliacea* (Lam) A. H. Gentry Y SU
USO POTENCIAL EN LA CONSERVACIÓN DE LA CARNE DE POLLO**”, bajo la
responsabilidad del egresado señor Darío Rafael Hidalgo Núñez, ha sido meticulosamente
revisada, autorizando su presentación:

MIEMBROS DEL TRIBUNAL

.....
Dr. C. Manuel Lázaro Pérez Quintana, PhD
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

.....
Dr. C. Luis Ramón Bravo Sánchez, PhD
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

.....
Ing. Sandra Luisa Soria Re, MSc.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTOS

Mi agradecimiento muy especial a la Universidad Estatal Amazónica, a los maestros y maestras de la maestría en Agroindustria mención Sistemas Agroindustriales.

A la Dra.C. Ana Lucía Chafla M, Directora de la Investigación, y demás miembros del Tribunal, quienes con sus oportunas sugerencias me guiaron para llegar a concluir con satisfacción el presente trabajo.

Darío Rafael

DEDICATORIA

Este Trabajo de Investigación se lo dedico en primer lugar a Dios, que me ha bendecido grandemente.

A mis Padres: Braulio y María, mis Hermanos Henry, Belén y Lenin, a mi esposa Tania, por todo su amor, apoyo y comprensión.

Darío Rafael

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la actividad antioxidante y antimicrobiana del ajo sachá (*Mansoa alliacea*) en la conservación de carne de pollo. Se utilizaron tres solventes para la extracción de polifenoles totales. Se maceró 500 g de ajo sachá, se adicionó solvente en relación 1:4 durante 10 días con agitación cada 6 horas. Se determinó la concentración de polifenoles en los extractos acuoso, etanólico y mixto (H:E). El extracto acuoso presentó un mayor rendimiento y concentración de polifenoles, se estandarizó a concentración de 0,43 g/mL. La CMI del extracto acuoso sobre *Escherichia coli* y *Aspergillus niger*, en concentraciones de 10^{-1} hasta 10^{-5} , fue significativo ($P < 0,05$) para 10^{-2} mL, que mostró el menor crecimiento y mayor halo de inhibición (6,22 mm de diámetro). En *Aspergillus niger*, se obtuvo un diámetro de colonia de $9,7 \pm 0,10$, ($P < 0,05$). Del extracto de 10^{-1} se obtuvo diluciones de 0%, 1% y 1,5%, almacenados a los 0 y 10 días, se aplicó un DCA con arreglo factorial AxB. El extracto se aplicó por inmersión de los muslos de pollo, se analizó pH, oxidación lipídica y recuento de aerobios mesófilos. Los polifenoles del extracto acuoso, fueron significativos ($P < 0,05$) con valores de $7816,21 \pm 0,19$ mgAG/L. El tratamiento al 1,5% de extracto a los 10 días de almacenamiento a 4°C , mostró menor variación de pH ($6,73 \pm 0,05$), y el índice de peróxido fue significativo en todos los tratamientos ($P < 0,05$), el C2T2 presentó el valor más bajo ($7,95 \pm 0,43$ mE/Kg). Los aerobios mesófilos en muslos de pollos, no presentaron diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$)

Palabras clave: Ajo sachá (*Mansoa alliacea*), polifenoles, CMI, antioxidante, antimicrobiano

ABSTRACT

In order to evaluate the antioxidant and antimicrobial activity of *Mansoa alliacea* in the conservation of chicken meat, three solvents were used for the extraction of total polyphenols. It macerated 500 g of garlic Sacha, is added solvent in relation 1:4 for 10 days with agitation every 6 hours. The concentration of polyphenols in the aqueous, ethanolic and mixed extracts (H:E) was determined. The aqueous extract presented a higher yield and concentration of polyphenols, was standardized to concentration of 0,43 g/ML. The CMI of the aqueous extract on *Escherichia coli* and *Aspergillus niger*, in concentrations of 10^{-1} Up to 10^{-5} it was significant ($P < 0,05$) for 10^{-2} which showed the least growth and Greater inhibition halo (6,22 mm diameter). In *Aspergillus niger*, it obtained a colony diameter of $9,7 \pm 0,10$, ($P < 0,05$). Extract of 10^{-1} Dilutions of 0%, 1% and 1,5% were obtained, stored at 0 and 10 days, a DCA was applied with AxB factorial arrangement. The extract was applied by immersion of the chicken thighs, pH, lipid oxidation and mesophiles aerobic count were analyzed. The polyphenols of the aqueous extract were significant ($P < 0,05$) with values of $7816,21 \pm 0,19$ MgAG/L. Treatment at 1.5% of extract at 10 days of storage at 4 °C showed lower pH variation ($6,73 \pm 0,05$), and the index of peroxide was significant in all treatments ($P < 0,05$), the C2T2 presented the lowest value ($7,95 \pm 0,43$ ME/Kg). The aerobic mesophiles in chicken thighs, showed no significant differences between treatments ($p > 0,05$).

Key words: *Mansoa alliacea*, polyphenols, CMI, antioxidant, antimicrobial.

TABLA DE CONTENIDOS

AUTORÍA	i
DECLARACIÓN DE AUTORIA Y CESIÓN DE DERECHOS	ii
CERTIFICADO DE APROBACIÓN POR EL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN	iii
AGRADECIMIENTO	iv
DEDICATORIA.....	v
RESUMEN EJECUTIVO Y PALABRAS CLAVES	vi
ABSTRACT, AND KEYWORDS	vii
TABLA DE CONTENIDOS	viii
ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	x
ÍNDICE DE ANEXOS	xi

CAPÍTULO I.

1.1. INTRODUCCIÓN	1
1.2. PROBLEMA CIENTÍFICO:	3
1.3. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN:.....	3
1.4. OBJETIVO GENERAL:.....	3
OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	3

CAPÍTULO II

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. ANTIOXIDANTES	4
2.2. ANTIOXIDANTES Y SALUD	7
CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIOXIDANTES	8
OXIDACIÓN LIPÍDICA	11
2.4. ÍNDICE DE PERÓXIDOS	12
2.5. MÉTODOS DE LABORATORIO PARA EL ANÁLISIS DE ANTIOXIDANTES EN LOS ALIMENTOS	12
2.6. ANTIMICROBIANOS NATURALES	14
2.7. AJO SACHA.....	16
TAXONOMÍA DE <i>MANSOA ALLIACEA</i> (AJO SACHA).....	16
2.8. LA CARNE DE POLLO	17
ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE DE POLLO.....	18
2.9. TECNOLOGÍAS PARA LA CONSERVACIÓN DE LA CARNE DE POLLO.	20

CAPÍTULO III	22
3. MATERIALES Y MÉTODOS	22
3.1. LOCALIZACIÓN	22
3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN	22
3.3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	22
3.4. DISEÑO EXPERIMENTAL	26
3.5. ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS	26
3.6. TRATAMIENTO DE DATOS	27
CAPÍTULO IV	28
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
4.1. DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES EN EL EXTRACTO MADRE DE AJO SACHA	28
4.2. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL EXTRACTO ACUOSO DE AJO SACHA	30
4.3. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES NIVELES DE EXTRACTO DE AJO SACHA EN LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, QUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DE LA CARNE DE POLLO	34
CAPÍTULO V	39
5. CONCLUSIONES	39
CAPÍTULO VI	40
6. RECOMENDACIONES	40
BIBLIOGRAFÍA	41
ANEXOS	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Antioxidantes primarios de origen natural y artificial.....	8
Tabla 2. Antioxidantes secundarios de origen natural y artificial	9
Tabla 3. Antioxidantes naturales empleados en carnes y productos cárnicos	10
Tabla 4. Clasificación taxonómica de la <i>Mansoa alliacea</i> (ajo sachá)	16
Tabla 5. Composición del muslo y pechuga de pollo sin piel	18
Tabla 6: Diseño Factorial de Tratamientos.....	26
Tabla 7: Determinación de la CMI de extracto de ajo sachá sobre <i>Escherichia coli</i>	30
Tabla 8. Efecto del extracto de ajo sachá en el crecimiento de <i>Aspergillus niger</i>	33
Tabla 9. Efecto de la concentración de extracto de ajo sachá en el pH e índice de peróxido ...	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de flujo de la obtención del extracto seco	23
Figura 2. Contenido de polifenoles totales (mg A. gálico/L) en extracto acuoso, alcohólico y mixto en ajo sachá	28
Figura 3. Concentración mínima inhibitoria del extracto de ajo sachá sobre el crecimiento de <i>E coli.</i> (a,b,c,d,e)	30
Figura 4. Diámetro de halos de inhibición de crecimiento del cultivo de <i>E. coli.</i> En función de la concentración de extracto de ajo sachá. (a,b,c,d,e)	32
Figura 5. Efecto de la adición de extracto de ajo sachá en el crecimiento de aerobios mesófilos. (a,b)	37

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Fotos de la obtención del extracto seco	49
Anexo 2: Fotos de la determinación concentración mínima inhibitoria del extracto de ajo sacha sobre el crecimiento de E coli.....	52
Anexo 3: Resultado de análisis de polifenoles en el extracto de ajo sacha.....	53

CAPÍTULO I.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, los países desarrollados que poseen una potente industria alimentaria, así como países en vías de desarrollo, encaminan sus requerimientos generales y progresivos en la aplicación de nuevas tecnologías, que permitan mantener productos alimenticios durante largo tiempo y de forma segura.

A pesar del gran desarrollo tecnológico alcanzado en la conservación de alimentos por procedimientos industriales, el consumidor busca garantizar su salud, evitando el consumo de alimentos que incluyan aditivos químicos e inclinan su preferencia en los alimentos naturales.

Sin embargo, la mayor parte de los alimentos en estado natural o fresco, no posee una vida útil muy prolongada, debido al crecimiento microbiano que son naturales en ellos. En busca de inhibir este crecimiento, la industria alimenticia emplea algunos métodos de conservación, el método de envasado con diferentes gases, o bien el empaque al vacío, ha significado un avance extraordinario en los últimos años.

El método de envasado en atmósferas protectoras, depende principalmente de la oxidación del alimento, que es potenciada por la luz y en particular por la radiación ultravioleta. Así la vida comercial de los alimentos envasados con materiales plásticos transparentes, está limitada por la aparición de colores, olores y sabores desagradables, relacionada con estos fenómenos (Ospina y Cartagena, 2008).

Las carnes frescas, son un ejemplo típico de este comportamiento, en efecto, la necesidad de incorporar oxígeno a la mezcla de gases de envasado para mantener el color propio de la carne fresca, da lugar a que las condiciones sean fuertemente oxidantes (Pérez y Andújar, 2000).

García *et al.*, (2015) afirman: La carne envasada, sometida a la iluminación habitual en las vitrinas expositoras de los supermercados, puede sufrir una gran oxidación, que resulte en la rápida pérdida del color, olor y sabor de carne fresca, lo que conlleva en la práctica, que a priori la carne envasada posea una vida útil reducida, del orden de 5 días.

Por tal razón, numerosas investigaciones se enfocan en la búsqueda de nuevos sistemas para reducir estos problemas, entre los que se destacan por su eficacia, el uso de diversos antioxidantes naturales. Entre ellos se cuentan antioxidantes vitamínicos (ácido ascórbico o vitamina C, tocoferol o vitamina E); antioxidantes musculares (carnosina, carnitina, taurina) y antioxidantes procedentes de extractos de plantas (García *et al.*, 2004).

Gómez *et al.*, (2013) afirman: todas las sustancias antioxidantes ejercen su efecto por medio de dos mecanismos diferentes, aunque relacionados entre sí. Por una parte, inhiben la oxidación de la mioglobina, con lo que protegen el color rojo brillante de la carne fresca. Por otra, inhiben la oxidación de los ácidos grasos, con lo que se frena la aparición de olores y sabores de carne no fresca.

Numerosas especies de plantas han sido utilizadas como saborizantes y posteriormente reconocidas por su potencial antimicrobiano y antioxidante. Dentro de estas especies se destacan especies como el ajo *Allium sativum* L., cebolla *Allium cepa* L., menta *Mentha spicata* L., anís *Carum carvi* L., albahaca *Ocimum basilicum* L., canela *Cinnamomum verum* J.Presl., orégano *Origanum vulgare* L., etc. (Vásquez Valles *et al.*, 2014). Por otro lado, el ajo sacha o ajo de monte *Mansoa alliacea* (Lam.) A.H.Gentry, se ha utilizado desde la antigüedad como una medicina por tener propiedades antibacterianas, antifúngicas y antivirales; sin embargo, no se encuentran referencias sobre su uso como aditivo antioxidante en la conservación de la carne.

El estudio de alternativas de nuevos aditivos derivados de plantas amazónicas para uso en conservación de la carne de pollo permitirá a los productores de la región prolongar la vida útil de sus productos en condiciones inocuas, así mismo conservar la calidad original de la carne. Además, abre la posibilidad de extender su mercado de distribución, fomentando el crecimiento de la actividad económica en la región, y promover el consumo de productos conservados de manera natural.

Con este antecedente el presente trabajo pretende aportar con un método de conservación adecuados para la carne de pollo, sin alterar su calidad.

PROBLEMA CIENTÍFICO:

¿La limitada producción de carne de pollo empleando el extracto de ajo sachá *Mansoa alliacea* (Lam.) A. H. Gentry como aditivo natural en su conservación en beneficio de la salud?

HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN:

La concentración óptima de extracto de ajo sachá *Mansoa alliacea* (Lam.) A. H. Gentry rico en antioxidantes naturales, permitirá prolongar la vida útil de la carne de pollo sin alterar sus características físico químicas.

OBJETIVO GENERAL:

- Evaluar la actividad antioxidante y antimicrobiana del ajo sachá *Mansoa alliacea* (Lam.) A. H. Gentry y su uso potencial en la conservación de carne de pollo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Establecer la metodología apropiada para la obtención del extracto de ajo sachá.
- Determinar la concentración de polifenoles y la capacidad mínima inhibidora del extracto de ajo sachá.
- Evaluar el efecto antioxidante y antimicrobiano de diferentes niveles de extracto de ajo sachá en las características físicas, químicas y microbiológicas de la carne de pollo.

CAPÍTULO II

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. ANTIOXIDANTES

En la actualidad se han desarrollado diversas metodologías para prevenir el deterioro oxidativo en productos cárnicos, que sean capaces de limitar el acceso del oxígeno a los lípidos y proteínas de la carne, componentes susceptibles de sufrir oxidación (Lund *et al.*, 2011).

Una forma de reducir la aparición de fenómenos de oxidación en la carne y/o los productos cárnicos es el uso de antioxidantes. Kobus *et al.*, (2014) mencionan que “Un antioxidante es cualquier molécula capaz de prevenir o retardar la oxidación, entregando uno o más de sus electrones para estabilizar algún componente biológico desapareado por efecto del ataque de radicales libres”. El enfoque actual en la industria de los alimentos y la carne es adicionar antioxidantes a éstos, principalmente de origen natural al producto final.

Varias investigaciones sostienen que los procesos oxidativos que afectan a las proteínas conducen a la formación de agregados proteicos lo que podría tener un efecto sobre la digestibilidad de la proteína. Al igual que la oxidación lipídica, la oxidación de las proteínas puede llevar a una disminución significativa del valor nutritivo de la carne y/o productos cárnicos en términos de disponibilidad de aminoácidos esenciales y digestibilidad de las proteínas oxidadas. Además, las principales consecuencias sobre la calidad de la carne y productos cárnicos se aprecian en el color y la textura del producto (Lund *et al.*, 2011).

El efecto antioxidante procede esencialmente de su elevado contenido en polifenoles y ácidos fenólicos, como ácido rosmarínico, carnosol, ácido sinápico, catequinas, capsaicinas, carotenos, licopeno, etc. El efecto antimicrobiano, por su parte, se debe a los aceites esenciales, en general terpenos, terpinenos y terpinoides: carvacrol, eugenol, geraniol, timol, linalool, cineol, canfeno, etc (Roncales, 2010).

El enfoque actual en la industria de los alimentos y la carne es adicionar antioxidantes a éstos, principalmente de origen natural. Por lo tanto, existe una creciente demanda de antioxidantes naturales, incluso algunos de ellos pueden tener un efecto más potente que los antioxidantes artificiales (Valenzuela & Pérez, 2016).

Las plantas aromáticas se emplean no sólo como ingredientes tradicionales de los alimentos, también por sus propiedades antioxidantes. Algunos ejemplos de ellas son el orégano (*Poliomintha longiflora* Gray), el romero (*Rosmarinus officinalis* L.), la salvia europea (*Salvia officinalis* L.), el tomillo (*Thymus vulgaris* L.), la mejorana (*Origanum majorana* L.), el jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), la pimienta (*Piper nigrum* L.).

Rajalakshmi y Narasimhan, (1996) mencionan algunas de las ventajas y desventajas que se han encontrado al comparar los antioxidantes naturales con los sintéticos.

Ventajas:

- Preferencia por los consumidores al considerarse como aditivos seguros.
- Al ser naturales no requieren pruebas de seguridad toxicológica por la legislación de cada país.
- Son abundantes en la naturaleza

Desventajas:

- Generalmente son más caros si se purifican y son menos eficientes si no se purifican
- Las propiedades de los extractos varían si no se purifican.
- Su seguridad casi siempre se desconoce.
- Pueden impartir color y/o sabor al producto.

La acción de los antioxidantes en la oxidación lipídica de productos cárnicos es un proceso complejo y su dinámica depende de varios factores como la composición química del producto, el proceso de manufactura, exposición a la luz y al oxígeno, temperatura de almacenamiento (Larrauri, 2016).

Estos factores pueden afectar en las materias primas, durante el procesamiento o en el producto final durante su almacenamiento. Por ello, la industria alimentaria necesita controlar los factores que pueden incidir en la oxidación durante el procesamiento y conservación para minimizar su impacto en la calidad de los alimentos (Frankel, 2005).

Estévez *et al.*, (2008) afirman “La aplicación de antioxidantes naturales en carne y productos cárnicos provenientes de los extractos de plantas ricos en compuestos fenólicos

parecen ser los mejores candidatos para su uso como antioxidantes ya que se obtienen fácilmente a partir de fuentes naturales y además evitan la aparición de fenómenos oxidativos”.

Las propiedades antioxidantes de dichos compuestos se han probado con éxito tanto en sistemas modelo como en productos cárnicos. De hecho, el número de trabajos donde se evalúa la actividad antioxidante de los mismos innumerable (Estévez *et al.*, 2006).

Sánchez *et al.*, (2001) comprobaron que las plantas que contienen licopeno, como el tomate y el pimiento rojo poseen una importante actividad antioxidante, así como los compuestos extraídos a partir de aceites esenciales de orégano, borraja (*Borago officinalis* L.) y salvia estudiadas por su potencial antioxidante. Estos compuestos también suelen mostrar actividad antimicrobiana que los hace útiles para mejorar la seguridad alimentaria del producto mediante la inhibición del crecimiento de patógenos alimentarios (Sánchez *et al.*, 2001).

Tanabe *et al.*, (2002) comprobaron la actividad antioxidante de diferentes plantas silvestres entre las que se encontraban el orégano, salvia, tomillo, canela, albahaca, pimienta blanca y negra; demostraron que estas plantas incorporadas en forma de extractos a la carne de cerdo previenen la oxidación lipídica gracias a la presencia de compuestos tipo terpenofenoles aislados de dichas especias y/o plantas aromáticas que poseían gran capacidad antioxidante, siendo especias como el romero, la salvia, el clavo *Syzygium aromaticum* L.Merr. y L.M.Perry y el orégano las más eficaces frente a las reacciones de oxidación.

Los principios activos que poseen estas especias son; carnosol, ácido rosmarínico, rosmaridifenol en el romero, el eugenol en el clavo, el ácido ferúlico en la pimienta negra, la capsaicina y capsantina en la pimienta de cayena y en las guindillas, entre otros (Estévez *et al.*, 2008).

Estévez *et al.*, (2008), lograron identificar los mecanismos involucrados en las interacciones entre proteínas y compuestos fenólicos, debido a que los compuestos fenólicos podrían ejercer acciones antioxidantes o pro-oxidantes sobre las proteínas, en dependencia de su estructura química, concentración en el producto, el estado oxidativo, así como la estructura y propiedades de las proteínas.

Ganhão *et al.*, (2010) estudiaron la capacidad antioxidante de extractos de frutas silvestres mediterráneas (Madroño *Arbutus unedo*, L., Espino blanco *Crataegus monogyna*, L., Rosa canina *Rosa canina*, L. y Zarzamora *Rubus ulmifolius*, Schott) en hamburguesas de cerdo, demostraron que los extractos naturales como antioxidantes mejoraron la estabilidad oxidativa del producto con la reducción de las reacciones de oxidación de lípidos y proteínas. De los extractos investigados, el madroño, zarzamora, y rosa canina presentaron una intensa actividad antioxidantes siendo esta atribuida a su elevado contenido en compuestos fenólicos. Con este estudio se dio a conocer que el empleo de extractos naturales de frutas silvestres mediterráneas no sólo permitió reducir las reacciones de oxidación en el producto, sino que también mejora su estabilidad oxidativa y prolongaba su vida útil sin alterar las propiedades organolépticas.

2.2. ANTIOXIDANTES Y SALUD

Los antioxidantes que forman parte de la dieta pueden proteger al cuerpo del daño oxidativo que podría provocar a la larga la aparición de enfermedades como el cáncer o las Enfermedades cardiovasculares. Los ejemplos más habituales de antioxidantes dietéticos son la vitamina C, la vitamina E y los carotenoides, mientras que los minerales como el cinc o el selenio son componentes esenciales de las enzimas antioxidantes del cuerpo. Sin embargo, la ingesta de dosis altas de antioxidantes en forma de suplementos vitamínicos y minerales no parece reducir más el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares o cáncer (Stanner S y Weichselbaum, 2013).

Gran parte de las pruebas que demuestran el efecto protector de los polifenoles contra las enfermedades cardiovasculares, el cáncer y las enfermedades neurodegenerativas se han obtenido mediante estudios *in vitro* con cultivos de células humanas y mediante estudios en animales. Sin embargo, resulta difícil establecer su importancia biológica y saber cómo influyen en la salud humana. Las dosis testadas son, con frecuencia, mucho más altas que las cantidades ingeridas en la dieta de una persona. Tras la ingesta, los polifenoles se metabolizan, por lo que podrían no encontrarse en el cuerpo en las formas en las que fueron probados en los estudios *in vitro*. (Weichselbaum y Buttriss, 2010).

Los Compuestos antioxidantes cuyo consumo ha sido asociado con efectos beneficios para la salud, han sido utilizados en la elaboración de productos cárnicos. Así, con un potencial beneficio sobre disminución de riesgo de cáncer se han utilizado extractos de plantas con

alto contenido en polifenoles, carotenos, ácido fólico, vitamina E, el licopeno, etc. Con el mismo fin se ha reducido la presencia de componentes tales como nitritos (nitrosaminas), productos de la oxidación lipídica, fosfatos inorgánicos, hidrocarburos aromáticos policíclicos, aminos heterocíclicas y hierro (Valenzuela y Pérez, 2016).

CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes se clasifican dependiendo de su modo de acción: antioxidantes primarios, secundarios o terciarios, y por su naturaleza: antioxidantes naturales o sintéticos (Melgarejo, 1998).

Antioxidantes primarios. Previenen la formación de nuevos radicales libres, convirtiéndolos en moléculas menos perjudiciales. Algunos ejemplos de estos antioxidantes primarios, clasificados por su origen se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Antioxidantes primarios de origen natural y artificial (Melgarejo, 1998).

Antioxidantes primarios naturales	Antioxidantes primarios artificiales
<ul style="list-style-type: none"> • La enzima glutatión peroxidasa (GPx), que convierte el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y los peróxidos lipídicos en moléculas inofensivas antes de que formen radicales libres • Las catalasas • El glutatión reductasa • El glutatión S transferasa • Las proteínas que se unen a metales (ferritina, transferrina) y limitan la disponibilidad de hierro necesario para formar el radical OH 	<ul style="list-style-type: none"> • BHA • BHT • Galato de propilo • TBHQ

Antioxidantes secundarios. En este grupo se encuentran aquellas moléculas que son capaces de capturar radicales libres, evitando así la reacción en cadena (Tabla 2).

Tabla 2. Antioxidantes secundarios de origen natural y artificial (Melgarejo, 1998).

De origen natural	De origen natural y artificial
• La vitamina E o alfa-tocoferol	• Ácido ascórbico
• La vitamina C o ácido ascórbico	• Palmitato de ascorbilo
• El beta-caroteno	• Ácido cítrico
• El ácido úrico	• Citrato de sodio
• La bilirrubina	• Citrato de etilo
• La albúmina	• Ácido eritorbico
• La melatonina	• Eritorbato de sodio
• Los estrógenos	• EDTA
• Polifenoles	• Ácido tartárico
• Ascorbato de sodio	• Tartrato de sodio
• Palmitato de ascorbilo	
• Ácido cítrico	
• Citrato de sodio	
• Citrato de potasio	
• Citrato de etilo	
• Ácido eritorbico.	

Antioxidantes terciarios. Aquello que reconstruyen las biomoléculas deterioradas por los radicales libres. Entre las que se encuentra las endonucleasas, exonucleasas reparadoras de ADN (Velásquez *et al.*, 2004).

Diversos estudios realizados en función a la compleja estructura de los alimentos y la variedad de compuestos antioxidantes presentes como los compuestos fenólicos, gracias a su actividad antioxidante, la industria cárnica, ha enfocado su interés en la investigación y aplicación de antioxidantes naturales, como una manera de reducir el uso de antioxidantes sintéticos. Valenzuela y Pérez (2016), mencionan la aplicación de antioxidantes naturales en carne y productos cárnicos (Tabla 3).

Tabla 3. Antioxidantes naturales empleados en carnes y productos cárnicos (Valenzuela y Pérez 2016).

Antioxidante Natural	Carne/ Producto cárnico	Resultado
Jugo de granada	Pechugas de pollo cruda	Reduce la oxidación lipídica
Extracto de hoja de curri y menta	Carne cruda de cerdo	Reduce la oxidación lipídica
Aceite de orégano	Carne fresca de vacuno	Aumento de la vida útil
Extracto de grosella negra	Hamburguesas de cerdo	Reduce la oxidación lipídica y proteica
Té verde y semillas de uva	Paté	Mejoramiento de la estabilidad oxidativa de los lípidos y el color
Extracto de té verde y romero	Salchichas de cerdo	Reduce la oxidación lipídica y proteica

2.3. OXIDACIÓN DE LÍPIDOS

Los lípidos tienen un papel nutricional muy importante, debido a que son considerados como fuente de energía, ácidos grasos esenciales, vitaminas liposolubles, precursores de hormonas pero también por sus características sensoriales en lo referente a la textura y al sabor de los alimentos (Jeantet *et al.*, 2013).

Una de las desventajas que presentan los lípidos contenidos en los alimentos, es su sensibilidad a la acción oxidativa, que es considerada como una de las principales causas de deterioro de los alimentos y que origina la aparición de olores y sabores indeseables, que en conjunto se conoce como enranciamiento, causante de reducir la calidad nutricional al destruir ácidos grasos esenciales y vitaminas liposolubles, modificar la textura y color de los alimentos e incluso generar compuestos tóxicos para la salud (Jeantet *et al.*, 2013).

Baudi (2013) manifiesta “La oxidación lipídica es la reacción por la cual el oxígeno molecular reacciona con los ácidos grasos insaturados para generar compuestos que mantienen y aceleran la reacción y se sintetizan sustancias de bajo peso molecular, muchas de ellas volátiles, que confieren el olor típico a grasa oxidada.

Es conocido que la susceptibilidad de las grasas a la oxidación está determinada por el grado de insaturación de sus ácidos grasos presentes en la molécula, es decir, cuanto mayor sea el número de insaturaciones mayor será la oxidación. Sin embargo, la oxidación de las grasas no se produce espontáneamente entre el oxígeno molecular y moléculas de ácido graso insaturado en su estado fundamental, el oxígeno reaccionará al encontrar electrones no apareados, es decir, radicales libres (Jeantet, *et al.*, 2013).

Para que la oxidación tenga lugar es necesario la intervención de indicadores que catalicen el proceso de formación de radicales libres, entre los que se encuentra la energía de la luz o la temperatura, radiaciones ionizantes, la presencia de iones metales polivalente (hierro, cobre, etc.) libres o unidos a moléculas orgánicas (metaloproteínas como la hemoglobina), enzimas y algunos microorganismos (Iglesias Neira, 2009).

Todo proceso de oxidación involucra dos productos; los productos primarios de la oxidación en los que se presenta compuestos sin sabor ni olor y los productos secundarios de la oxidación que proceden de la descomposición de los hidroperóxidos que comprenden: alcoholes, aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos, ésteres, hidrocarburos, polímeros, entre otros compuestos de bajo peso molecular. Muchos de estos compuestos son volátiles y confieren aromas desagradables a muy bajas concentraciones, especialmente los aldehídos (Jeantet, *et al.*, 2013).

OXIDACIÓN LIPÍDICA

Larragaña *et al.*, (1999) manifiestan que el comportamiento de la oxidación de lípidos en forma aislada, difiere cuando este se encuentra en un sistema tan complejo como un alimento, en presencia o ausencia del período de inducción y un retraso de la etapa de propagación, debido a la acción de diferentes compuestos que interactúan con los productos de degradación, impidiendo que se descompongan y haciendo que los fenómenos de enranciamiento aparezcan más tarde.

Los métodos para medir el grado oxidativo de los lípidos varían desde evaluaciones sensoriales sencillas, hasta algunos análisis químicos o físicos que requieren de instrumentos de laboratorio muy sofisticados (Badui, 2013).

2.4. ÍNDICE DE PERÓXIDOS

El índice de peróxidos es una medida de la concentración de los productos primarios de la oxidación de la grasa o hidroperóxidos, que se expresa como miliequivalentes de los peróxidos por kilogramo de grasa extraída. El índice de peróxidos se determina por yodometría y se basa en la capacidad de los peróxidos de oxidar el yoduro de potasio KI y producir yodo que se valora con tiosulfato (Badui, 2006).

En cuanto al análisis de compuestos volátiles se pueden determinar por espectrofotometría, fluorescencia, cromatografía de gases, etc. (Badui, 2006). Su determinación presenta una correlación con los olores rancios a diferencia del índice de peróxidos y proporciona informaciones útiles sobre el origen de los compuestos volátiles (Jeantet, *et al.*, 2013). Los productos de descomposición analizados comúnmente son los aldehídos y cetonas.

El test del ácido tiobarbitúrico (TBA) es el método más común para comprobar la extensión del grado de oxidación en los lípidos, el cual es una medida de un complejo coloreado obtenido mediante la reacción de algunos aldehídos, en particular el aldehído malónico y el TBA, que se mide a 503 nm por espectrofotometría (Jeantet, *et al.*, 2013).

2.5. MÉTODOS DE LABORATORIO PARA EL ANÁLISIS DE ANTIOXIDANTES EN LOS ALIMENTOS

Existen varios métodos de laboratorio que permiten analizar antioxidantes en los alimentos, entre los métodos empleados resaltan:

- Cuantificación de polifenoles totales

El método consiste en la reacción colorimétrica de Folin-Ciocalteu, en donde los compuestos fenólicos se oxidan en presencia de los ácidos fosfotúngstico (PW12O₄₀H₃) y fosfomolibdico (PMO₁₂O₄₀H₃), reactivo de Folin-Ciocalteu, como resultado de la reacción se obtiene una mezcla de óxidos azules de tungsteno (W₈₀₂₃) y molibdeno (Mo_{8C>23}). La absorción máxima de éstos compuestos es de 750 nm y es

proporcional al porcentaje de compuestos fenólicos presentes en la muestra (Manzocco *et al.*, 1998).

- Cuantificación vitamina C

Uno de los métodos más sensibles para la determinación de especies químicas a nivel de trazas consiste en preconcentrar la muestra a analizar, centrifugándola después de haber sido sometida a extracción con ácido clorhídrico. Para posteriormente leer en el espectrofotómetro UV a una longitud de onda de 207 nm, en el cual, con la ayuda de un software incorporado a este, se procesará la lectura de absorbancia y se obtendrá el valor de la derivada de segundo orden, que permitirá determinar hasta la mínima cantidad de vitamina C presente en la muestra (Toral *et al.*, 2001).

- Densidad óptica

Cantidad de luz absorbida por una solución, se determina un estimado de la concentración de moléculas antioxidantes, aunque también pueden detectarse moléculas de otra naturaleza (Manzocco *et al.*, 1998).

- Poder reductor

La capacidad reductora de un compuesto antioxidante es un indicador significativo de su potencial (actividad antioxidante). El poder reductor aumenta conforme aumenta la concentración del antioxidante, ya que la acción del antioxidante será donar electrones. En el análisis espectrofotométrico una lectura elevada es indicadora de una reacción de reducción, ya que el hierro reducido se detecta a 700 nm (Manzocco *et al.*, 1998).

- Potencial Redox

Se refieren a la capacidad de los materiales de ganar electrones (reducción) o perder electrones (oxidación). En soluciones acuosas, el potencial de oxido/reducción, se mide mediante un electrodo estándar de hidrógeno como referencia. Al usar un electrodo Redox, este cambio de potencial se registra como un voltaje (mV), antecedido por un signo \pm el cual indica que la reacción puede ser exotérmica, si este es (+) o endotérmica, si este es (-). Cuando la reacción es exotérmica (libera energía), la reacción está dirigida hacia la oxidación y la solución medida se reducirá, al contrario si la reacción es endotérmica, está se encontrará en estado reducido y la solución tiende a oxidarse (Usseglio-Tomasset, 1998).

- Porcentaje de actividad de captura del radical (DPPH) 2,2,-difeníl-1 -picrilhidrazil que es un radical libre estable, de un color violeta intenso, al ser expuesto a compuestos antioxidantes, provocan la reducción del DPPH, con la respectiva pérdida del color violeta, se expresa como el porcentaje de actividad de captura del radical DPPH por compuestos antioxidantes (Molyneux, 2004).

2.6. ANTIMICROBIANOS NATURALES

Se definen como sustancias que se obtienen o se derivan de procesos biológicos y cuya inocuidad se atribuye a que cuando se ingieren son degradados por el organismo. Los antimicrobianos han extraído a partir de microorganismos, plantas y animales, y en su mayoría son utilizados en la conservación de alimentos y otros están siendo investigados para ser usados (García, *et al.*, 2005).

Wilkins y Borrad (1989) manifiestan: “Plantas, herbáceas, leñosas y especias, así como sus aceites esenciales, contienen un gran número de sustancias con propiedades que inhiben la actividad metabólica de bacterias, levaduras y mohos, estos compuestos pueden ser letales para las células microbianas o simplemente servir como inhibidores de la producción de metabolitos”.

La mayoría de los compuestos con actividad antimicrobiana encontrados en plantas y especias, son compuestos fenólicos, terpenos, alcoholes alifáticos, aldehídos, cetonas, ácidos e isoflavonoides, la mayoría de estos compuestos son identificados como metabolitos secundarios, enzimas hidrolíticas (glucanasas y citinasas) y proteínas que actúan principalmente sobre las membranas de los microorganismos invasores (Hayek, Gyawali y Ibrahim, 2013).

El mecanismo exacto de acción de los diferentes agentes antimicrobianos no es del todo conocido, esto se debe a que los investigadores se enfocan en un solo punto de la célula microbiana, por ejemplo, en una enzima específica o la membrana celular, sin determinar los efectos en otras funciones celulares (Davidson, 2001).

Conner (1993) afirma: “Los sitios de acción de los agentes antimicrobianos en la célula microbiana, incluyen a la membrana celular, pared celular, enzimas metabólicas, síntesis de proteínas, y el sistema genético, todos ellos estratégicos para la supervivencia de los microorganismos y cualquier acción sobre ellos puede inactivar a la célula microbiana.

Los compuestos utilizados como antimicrobianos causan daño en el contenido celular, interrupción con el transporte activo o con las enzimas metabólicas y dependerá de las concentraciones utilizadas en los alimentos, para causar inhibición o inactivación de los microorganismos (Eklund, 1989).

Jay (2000) manifiesta que: “Existe una relación entre la actividad antioxidante y la actividad antimicrobiana, puesto que se pensaba que, los antioxidantes evitaban la oxidación de los ácidos grasos hidrolizados, por sistemas enzimáticos producidos por microorganismos”. Sin embargo, hoy se sabe que los antioxidantes alteran el potencial redox óptimo de los microorganismos, lo que provoca un daño a nivel de pared celular y de la membrana y por consiguiente la alteración de la síntesis de proteínas, ADN y ARN, atribuyendo a los antioxidantes la propiedad de actuar como antimicrobianos

López et al., (2000), investigaron la actividad antimicrobiana del aldehído cinámico en *Aspergillus flavus*, y reportaron una capacidad mínima inhibidora (CMI) del extracto de canela de 200 ppm.

Fitzgerald et al., (2003), la inhibición de levaduras que alteran los alimentos al emplear el aceite esencial de vainillina, y reportaron una CMI de 21 mM de vainillina en *Saccharomyces cerevisiae* Meyen ex E.C.Hansen.

Souza et al., (2007), estudiaron la acción efectiva del aceite esencial de orégano para inhibir el crecimiento de levaduras, encontraron una CMI de 20 µL/mL en *Candida albicans* Robin Berkhout, analizaron además, compuestos fenólicos de alcaparras y su actividad antimicrobiana, en su investigación reportaron la presencia de dos flavonoides luteolina y apigenina y la inhibición a bacterias Gram (+) y (-).

Drovic y Milenkovic (2006) evaluaron la actividad antimicrobiana, anti-inflamatoria, antiulceras y antioxdante del aceite esencial de la raíz de *Carlina acanthifolia* All. Estos autores reportaron la inhibición de bacterias Gram (+) lo que le da la propiedad de antimicrobiano, y encontraron el óxido de *Carlina* que actúa como antioxidante en este aceite.

Liyana-Pathirana et al., (2006) analizaron la actividad antioxidante del jugo concentrado de *Prunus laurocerasus* L., y reportaron que una alta concentración de fenoles, le confiere efectos benéficos sobre enfermedades de estrés oxidativo.

Por tanto, un interés creciente en la búsqueda de agentes antimicrobianos naturales para su aplicación en productos alimenticios para evitar o inhibir el crecimiento microbiano y extender su vida útil. Tienen mayor efecto de inhibición contra las bacterias Gram-positivas que las bacterias Gram-negativas. La actividad contra ambos tipos de bacterias puede ser indicativo de la presencia de compuestos antibióticos de amplio espectro o toxinas metabólicas simplemente generales (Hayek, Gyawali, & Ibrahim, 2013)

2.7. AJO SACHA

El ajo de monte es utilizado como especia aromática y como medicina natural popular para curar diversas enfermedades como circulación sanguínea, presión arterial, antiinflamatorio, energizante y sedante. En la comida típica el ajo de monte es utilizado como un aromatizante en las carnes de caza preparadas al carbón para bajar la intensidad de su sabor (Sanchez, 2015).

TAXONOMÍA DE *Mansoa alliacea* (AJO SACHA)

En la Tabla 4, se presenta la clasificación taxonómica de la *Mansoa alliacea* (ajo sacha)

Tabla 4. Clasificación taxonómica de la *Mansoa alliacea* (ajo sacha)

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
Clase	Esquesitopsida C agardh
Subclase	Magnoliopsida
Superorden	Asteranae
Orden	Lamiales
Familia	Bignoniaceae
Género	<i>Mansoa</i>
Especie	<i>Alliacea</i>
Nombre científico:	<i>Mansoa alliacea</i> (Lam)A.H. Gentry

Fuente: Vega (2001)

El ajo de monte contiene algunos compuestos de azufre como la aliina y la alicina, los cuales son responsables del olor y sabor característico a los *Allium sphaerocephalon* L., y

en la comida típica Tsáchila. Las hojas y las flores contienen los conocidos esteroides de acción antiinflamatoria y antibacteriana, beta sitosterol, estigmasterol, daucasterol y fucosterol. Otras sustancias químicas del ajo son carbohidratos, proteínas, alcaloides, flavonas, saponinas, sulfuro de dimetil, sulfuro de divinilo, vitamina C y E, que actúan como antioxidantes y como elementos funcionales tales como el selenio y el cromo (Calero, 2010)

En los extractos de ajo sacha, el compuesto activo es la alicina (dialiltiosulfonato), el aminoácido cisteína se convierte en aliina (S-alil-L-cisteína-S-óxido), un sulfóxido conocido sin actividad antimicrobiana. La conversión de aliina a la alicina antimicrobiana requiere la enzima aliinasa. Los estudios sugieren que la aliina y aliinasa se encuentran en dos compartimentos diferentes, y cuando se machacan las hojas de ajo, aliinasa entra en contacto con la aliina y produce alicina. La alicina tiene el olor acre típico del ajo y exhibe propiedades antibacterianas, antifúngicas, antiparasitarios y antivirales. Los estudios demuestran que la alicina *in vitro*, tiene un gran potencial como conservante de alimentos (Hyldgaard, Mygind y Meyer, 2012).

Es importante entonces, mencionar que además de su actividad antimicrobiana los extractos de plantas, poseen efecto antioxidante. En varios estudios, se ha demostrado que los extractos tienen alta estabilidad oxidativa, y esto es útil para retardar la oxidación en diversas matrices alimentarias (Tuğba, 2012).

2.8. LA CARNE DE POLLO

La carne de pollo es considerada como un alimento nutritivo que contiene gran cantidad de proteína de alto valor biológico, vitaminas y minerales. Sus proteínas son fácilmente asimilables por el ser humano y aportan todos los aminoácidos esenciales, se destaca además el contenido de vitaminas del grupo B, especialmente B6 y B12, además de tiamina (B1), riboflavina (B2), niacina (B3) y ácido pantoténico (B5) (Fernández y Marsó, 2003).

La carne y los derivados cárnicos constituyen un excelente aporte de hierro, mucho más asimilable que el proporcionado por otros alimentos, además de fósforo y de otros minerales como el zinc, magnesio y calcio (Cortinas y Hernández, 2004).

La carne de pollo es considerada como un alimento de menor aporte energético por su bajo contenido de lípidos, el cual varía según la porción considerada, el alimento proporcionado y el estado fisiológico. En la tabla 5, se muestra la composición nutricional de las partes de mayor valor comercial como el muslo y la pechuga.

Tabla 5. Composición del muslo y pechuga de pollo sin piel (Cortinas y Hernández, 2004)

Nutriente (g)	Muslo de pollo	Pechuga de pollo
	Composición cada 100 g de porción comestible	
Agua	75,81	74,76
Energía (kcal)	119,0	110,0
Proteína	19,65	23,09
Lípidos	3,91	1,24
AGS	1,0	0,33
AGMI	1,21	0,3
GPI	0,97	0,28
Colesterol (mg)	83,0	58,0
Cenizas	0,96	1,02

ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE DE POLLO.

Es conocido que la carne en estado fresco y conservada bajo condiciones de refrigeración (4-5 °C), posee una vida útil limitada (5-6 días), debido a cambios autolíticos post mortem propios de la transformación del músculo en carne, fenómenos de oxidación de lípidos y proteínas y al crecimiento de microorganismos que se desarrollan de manera natural en su superficie (Faustman *et al.*, 2010).

Particularmente para el caso del deterioro de la carne por oxidación, este se debe a que la estabilidad de sus lípidos principalmente y proteínas dependen del balance entre los antioxidantes musculares y los componentes pro-oxidantes (Faustman *et al.*, 2010).

Zhang *et al.*, (2013) afirman: “Los componentes pro-oxidantes pueden llevar a los tejidos a sufrir una disminución de los sistemas antioxidantes, con la formación de especies reactivas del oxígeno (hidroxilos, superóxidos, y radicales del óxido nítrico) que deben interactuar con lípidos y proteínas constituyentes de la carne, produciendo su oxidación y aparición de olores y sabores desagradables, alteración del color, disminución de su calidad organoléptica y valor nutritivo, además de generar compuestos potencialmente nocivos para la salud del consumidor”.

Algunos procedimientos como el picado, cocción antes de la conservación de la carne por medio de la refrigeración y/o congelación, rompen la membrana de la célula muscular permitiendo la interacción de los lípidos insaturados con las sustancias pro-oxidantes, y de esta manera, acelerar la oxidación de los lípidos lo que ocasiona el rápido deterioro de la calidad y el desarrollo de la rancidez (Zhang *et al.*, 2013).

El grado de instauración de las fracciones lipídicas, el tipo de musculo, la dieta del animal, la presencia de aditivos, la conservación y el pH, pueden provocar susceptibilidad del tejido muscular a la oxidación de los lípidos (Zhang *et al.*, 2013).

El deterioro de la carne de pollo también puede ser consecuencia de una baja estabilidad oxidativa de la parte grasa, en este caso, aunque los microorganismos no estén en límites excesivos, el producto también termina su vida comercial útil debido a la oxidación de la parte grasa. La carne de pollo, en comparación con los rumiantes y/o cerdos, presenta un perfil fácilmente alterable por oxidación (Moreno, 2015).

El uso de antioxidantes naturales es una alternativa para mejorar la estabilidad oxidativa de la carne de pollo y, por tanto, su vida comercial útil.

La industria alimenticia gracias al desarrollo tecnológico, ha generado a nivel mundial diversas estrategias para prevenir el deterioro oxidativo de la carne y, a pesar de innumerables estudios en busca de metodologías de conservación, en la actualidad prolongar la vida útil de la carne sigue siendo un gran desafío tecnológico, debido a las altas pérdidas que se generan de este costoso y nutritivo producto, que según la FAO (2015) pueden llegar a ser entre un 25 a 33% de la producción.

2.9. TECNOLOGÍAS PARA LA CONSERVACIÓN DE LA CARNE DE POLLO

Tradicionalmente, los métodos de conservación que previenen el daño oxidativo de la carne se enfocan en las tecnologías la refrigeración, y el uso de atmósferas modificadas, que son las más utilizadas por la industria de la carne debido a su bajo costo y fácil implementación (Valenzuela y Pérez, 2016).

Por otra parte, el envasado al vacío, en donde se retira el aire del envoltorio de la carne con la ayuda de una bomba de vacío; o se cambia la composición de gases, principalmente O₂ y CO₂ del ambiente de la carne, ha tenido muy buenos resultados en relación a la disminución del daño por oxidación de la carne (Argyri *et al.*, 2012).

Otra metodología de conservación es la utilización de antioxidantes extraídos desde vegetales y hierbas en carnes frescas; la incorporación de los antioxidantes permitidos por el Reglamento Sanitario de los Alimentos están los tocoferoles, isoformas del ácido ascórbico (vitamina C), BHA, BHT, GP, entre otros (Argyri *et al.*, 2012).

La incorporación de compuestos antioxidantes en la superficie de la carne, mediante metodologías como el marinado se aplica especialmente en la industria de la carne de aves y cerdos, este proceso implica sumergir la carne en una solución acuosa, que contiene diferentes aditivos (sal, fosfatos, hidrocoloides, polisacáridos, aromas, entre otras.), con el objeto de aumentar el peso de la porción (hasta un 20% más), mejorar la palatabilidad, textura y su conservación (Descalzo y Sancho, 2008).

Esta técnica permite la incorporación de antioxidantes naturales extraídos desde fuentes vegetales y hierbas en donde los principales resultados observados también son la disminución de la oxidación lipídica y proteica de la carne (Descalzo y Sancho, 2008).

Muchos de los estudios han demostrado que los agentes antioxidantes naturales extraídos desde vegetales y hierbas podrían ser eficaces para extender la vida útil de la carne y productos cárnicos, principalmente por generar un retardo de la oxidación lipídica, medido generalmente por la generación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs) (Descalzo y Sancho, 2008).

También algunos antioxidantes naturales, además de disminuir el deterioro oxidativo de la carne, tienen propiedades antimicrobianas (Negi, 2012). Generalmente la capacidad antibacteriana de éstos ha sido evaluada en estudios *in vitro* (Solórzano *et al.*, 2012).

La mayoría de los extractos antioxidantes utilizados requieren de una técnica de extracción laboriosa, y han sido aplicados en la carne y sus derivados en estudios pilotos a escala de laboratorio (Shah *et al.*, 2014).

Sin embargo, los estudios que obtuvieron mejores resultados están elaborados en base a aceites esenciales de plantas herbáceas (romero y orégano) o ciertas frutas (subproductos de la uva), e inclusive se pudo llegar a obtener productos comerciales como: Herbalox®, Oreganox™, ActiVin™, Gravinol-S, Gravinol Super™, Provinols®, Pycnogenol®, GCA®, Fortium™ R20, Liposterine®, Exxenterol® (Shah *et al.*, 2014).

Nerín *et al.*, (2006) mencionan: “Las investigaciones realizadas muestran buenos resultados de la efectividad de los antioxidantes; sin embargo, existe un déficit importante de análisis organolépticos realizados mediante panel sensorial a la carne y productos cárnicos después de la aplicación de antioxidantes naturales, ya que algunos de los extractos presentan una alta capacidad de transferencia de olores y sabores a la carne, sobre todo los extractos de hierbas”.

La aplicación de los componentes antioxidantes se ha realizado principalmente en el producto final de la cadena productiva (carne fresca y cocida, cecinas, hamburguesas, y otras preparaciones), mediante marinado, inmersión, la inclusión de los compuestos antioxidantes naturales en la formulación del producto, y nuevas tecnologías como envases activos y películas comestibles, los cuales han tenido buenos resultados, e incluso hay varios productos presentes en el mercado ya patentados (Valenzuela y Pérez, 2016)

CAPÍTULO III

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LOCALIZACIÓN

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Agroindustrias y Microbiología de la Universidad Estatal Amazónica. Localizado en el Km 2 1/2 Paso Lateral vía Puyo a Tena, provincia de Pastaza entre las coordenadas altitud 0° 59' +1" S y longitud de 77° 49' 0" O, a una altura de 924 msnm con una temperatura que oscila entre 18 a 24 °C.

3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN

El presente trabajo de innovación corresponde a una investigación de tipo experimental debido a que se emplearon varios niveles de extracto de ajo sacha (*Mansoa alliacea*) en la conservación de la carne de pollo.

3.3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

En la presente investigación se seleccionó el método bibliográfico y el método experimental. Con respecto a la investigación experimental se llevó a cabo en tres fases, lo que permitió una mejor comprensión de los resultados obtenidos.

FASE 1: Colección del material vegetal y obtención del extracto

Entre los meses de junio y julio de 2108, se recolectaron 2 kg de hoja fresca de ajo sacha (*Mansoa alliacea*) en el Centro de Investigación, Posgrado, y conservación de la biodiversidad Amazónica (CIPCA) perteneciente a la Universidad Estatal Amazónica, ubicado en el km 44, vía Puyo – Tena, Cantón Carlos Julio Arosemena Tola, Provincia de Napo.

El material vegetal fue inspeccionado cuidadosamente, se procedió a la eliminación manual de organismos epífitos y hojas deterioradas. Se realizó un lavado con abundante agua destilada para eliminar los posibles microorganismos asociados o simbioses. Las muestras fueron secadas a temperatura ambiente y posteriormente secadas en estufa de aire

a 65 °C durante 8 horas. las muestras secas fueron molidas hasta obtener partículas finas y se almacenaron en fundas herméticamente selladas.

Para la obtención del extracto se empleó la técnica de macerado descrita por Sharapin (2000), que consistió en sumergir los 500 g de muestra molida en una solución de etanol (E) 80 grados en una relación 1:4, durante 10 días, al mismo tiempo que se realizó el extracto acuoso (100% H) y un extracto mixto (1:1; E:H) a temperatura ambiente. Se homogenizaron las muestras con agitaciones cada 6 horas. Luego se filtró el líquido, se exprimió el residuo, y se recuperó el solvente en un evaporador rotatorio hasta la obtención del extracto viscoso. Se pesaron 85 g de cada extracto, se añadió 200 mL de agua hasta la estandarización de $0,43 \pm 0,28$ g/mL, se envasó, se etiquetó y se almacenó en refrigeración a 4 °C. La obtención del extracto se realizó por triplicado.

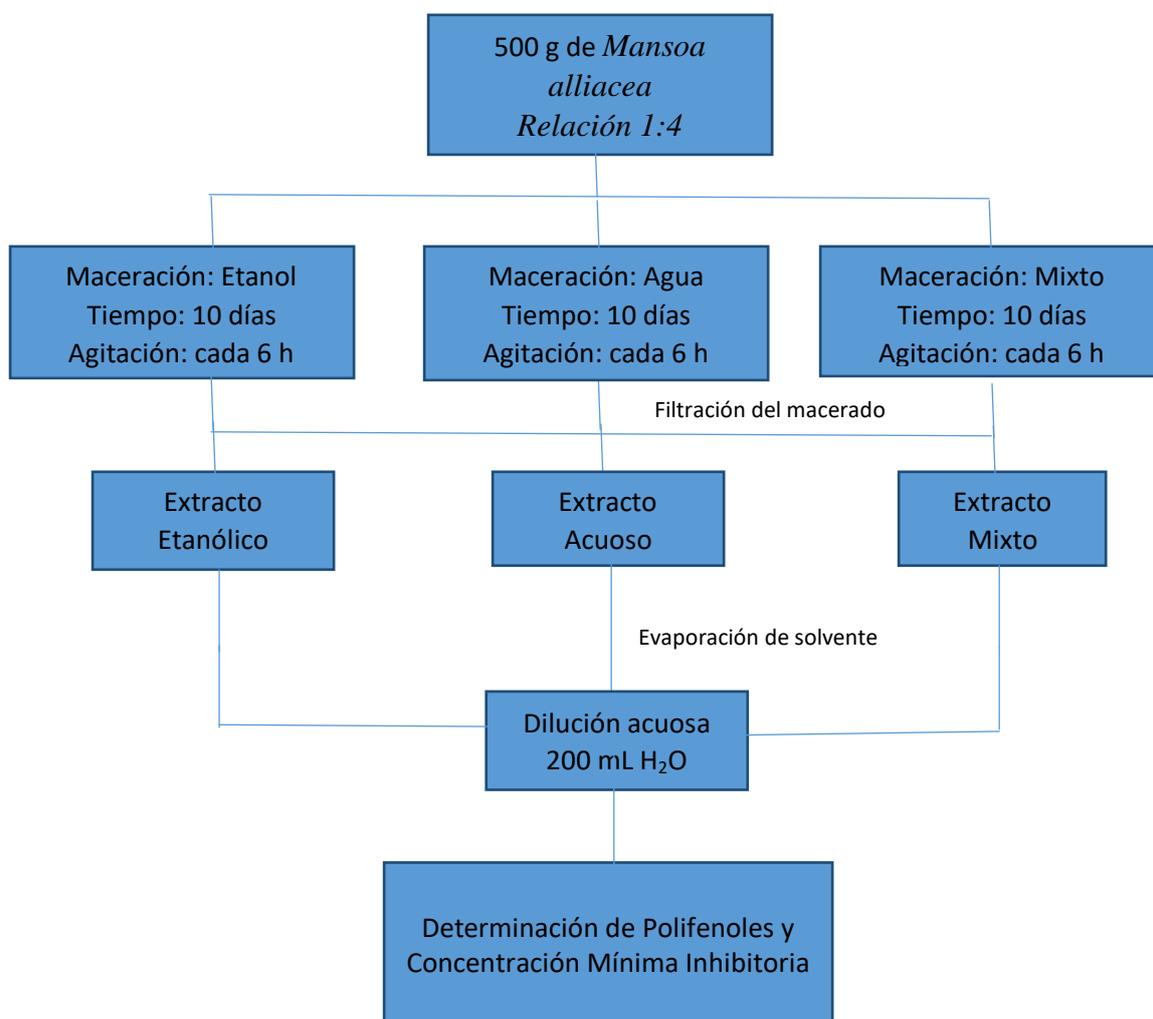


Figura 1. Diagrama de flujo de la obtención del extracto seco

Fuente: Hidalgo (2018).

FASE 2: Determinación de la capacidad antioxidante y antimicrobiana de los extractos

Determinación de Polifenoles Totales

Para la determinación de polifenoles totales, las muestras fueron enviadas al laboratorio del INIAP, el método empleado fue MO-LSAIA-15; Método de referencia Cross e. y Maringo G. 1973/1982.

Determinación Concentración Mínima Inhibidora

Para la determinación de la concentración mínima inhibidora (CMI) se partió del extracto madre de acuerdo a la metodología propuesta por Arroyo *et al.*, (2015).

Se tomó 1 mL de extracto madre ($0,43 \pm 0,28$ g/mL) y se adicionó 9 mL de agua esterilizada T2 (10^{-1}) se obtuvieron concentraciones seriadas de T3: 10^{-2} , T4: 10^{-3} , T5: 10^{-4} , T6: 10^{-5} . Se preparó un blanco como evidencia de la efectividad T1: 0

Se probaron los extractos frente a bacterias *Escherich coli*, (Ashfield y Ramón, 2016) y cepas fúngicas de *Aspergillus niger* P.E.L. Tieghem (Encalada, 2011). Las cepas de referencia fueron obtenidas del laboratorio de Microbiología UEA.

El efecto del extracto de ajo sacha sobre el crecimiento de la cepa bacteriana fue evaluado mediante 5 diluciones independientes. Los experimentos se realizaron en duplicado y se repitieron 3 veces. La unidad experimental para los ensayos de la actividad inhibitoria en medio líquido sobre la viabilidad de la bacteria fue el medio de cultivo líquido (Agar Mac Conkey) y un número definido de CFU/mL de la respectiva bacteria (10^7). Para la medición de los halos de inhibición del crecimiento, la unidad experimental fue en medio sólido (Agar Mac Conkey).

Se colocó las diferentes diluciones de extracto en los tubos de ensayo con 5 mL de medio de cultivo líquido, se inoculó 3×10^7 células/mL de *E coli*, y se incubaron a 37°C por 48 horas. Luego en una alícuota del medio se determinó el nivel de turbidez.

Para la prueba de viabilidad de las células se extrajo de cada tubo 10 μL y se hicieron 6 diluciones seriadas, se sembraron en placas con medio de cultivo sólido alícuotas de 10 μL , se incubaron durante 24 horas, se realizó el recuento de las unidades formadoras de colonia por mL de medio cultivo (CFU/mL) (Eydelnant y Tufenkji, 2008).

La determinación del halo de inhibición de crecimiento se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Rodríguez et al. (2007), previo a la inoculación, se realizaron círculos de 3 mm de diámetro en las placas de cultivo sólido. Se inocularon 10 µL de inóculo de *E coli* diluido en 90 µL de peptona que contenían 3×10^7 células/mL, se esparció homogéneamente con un asa metálica, en toda la placa en tres direcciones. Por otra parte, en cada uno de los círculos se depositaron las diluciones de extracto de ajo sachá. Luego de 24 horas de incubación se midió el diámetro del halo de inhibición del crecimiento formado en torno a cada círculo.

Para la determinación de CMI del *Aspergillus niger*, se sembró en medio de cultivo PDA, por triplicado, un trozo discoidal de 4 mm de diámetro, recolectado con un escarificador de la cepa de referencia *Aspergillus niger-UEA*, y se colocó en el centro de las cajas Petri. Se adicionó a cada caja Petri 0.1 mL de la dilución de extracto de ajo sachá. Las muestras se incubaron a 30 °C durante siete días. Se registró el crecimiento del micelio utilizando un calibrador Vernier de 0,05.

FASE 3: Evaluación de la capacidad antioxidante y antimicrobiana de diferentes niveles de extracto de ajo sachá en las características físicas, químicas y microbiológicas de la carne de pollo

Para la determinación de la capacidad antioxidante y antimicrobiana, se incorporó por inmersión durante 3 minutos, extracto de ajo sachá en muslos de pollo de acuerdo a las siguientes concentraciones (Skandamis y Nychas, 2001):

- 0 % de extracto de ajo sachá
- 0,5 % de extracto de ajo sachá
- 1,0 % de extracto de ajo sachá

El almacenamiento se realizó a 4 °C de, se tomó como tiempo de almacenamiento 0 y 10 días (Isaza *et al.*, 2012). Se empacó en bandeja de poliestireno expandido (EPS) embalado con PVC. Se obtuvo 6 tratamientos (Tabla 6).

Tabla 6. Diseño Factorial de Tratamientos

FACTORES	NIVELES	TRATAMIENTOS	REPETICIONES
A:Concentración de extracto	0% C0	C0T1	3 Repeticiones
	0,5% C1	C0T2	
	1% C2	C1T1	
		C1T2	
B: Tiempo de almacenamiento	0 días T1	C2T1	
	10 días T2	C2T2	

Fuente: Hidalgo (2018).

3.4. DISEÑO EXPERIMENTAL.

El diseño experimental utilizado fue de Diseño Completamente al azar (DCA) con diseño factorial de AxB, siendo el Factor A: Los niveles de extracto (0%; 0,5% y 1%) a partir del extracto madre ($0,43 \pm 0,28$ g/mL) con medidas repetidas en el tiempo, donde se realizaron 6 tratamientos y tres repeticiones para cada tratamiento con un total de 18 unidades experimentales (UE). El tamaño de la UE fue de 1 ± 03 kg de muslos de pollo.

3.5. ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS

- Análisis de pH
- Determinación oxidación lipídica (índice de peróxidos), según el método AOAC (2002)
- Determinación de Aerobios mesófilos (UFC) (conteo de placas), según NTE INEN 1338

3.6. TRATAMIENTO DE DATOS

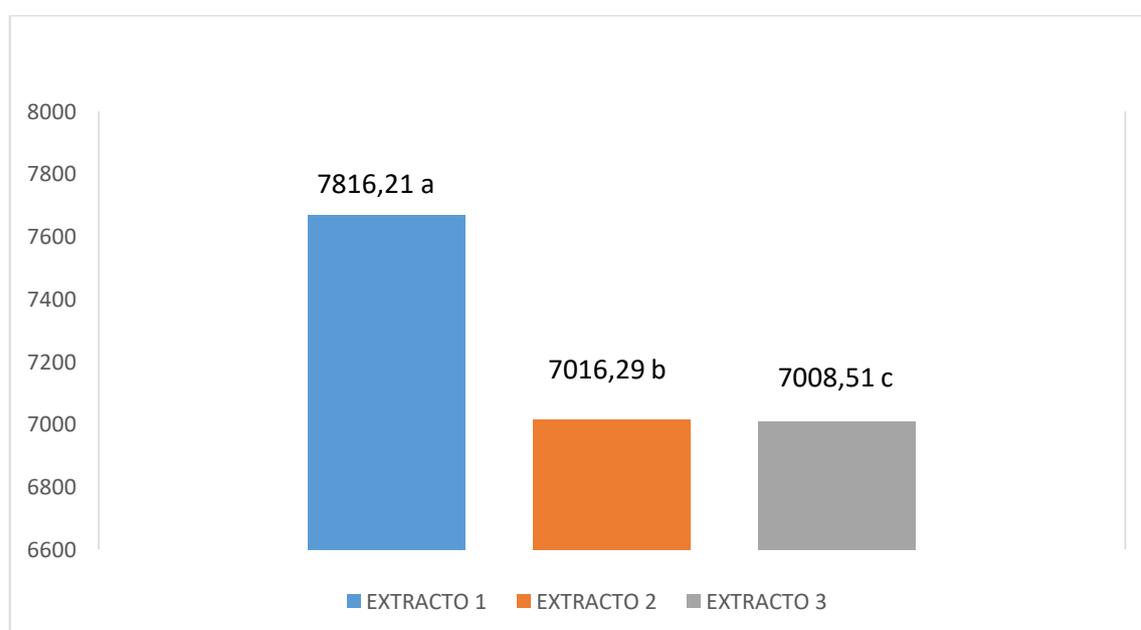
los resultados se analizaron a través del uso del sistema de Análisis Estadístico (SPSS), versión 24, evaluando cada uno de los resultados de cada variable en la carne de pollo. Se utilizó un Análisis de Varianza (ANOVA) haciendo uso de separación de media Duncan al 5 % para las variables que resultaron significativas en el ANOVA.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES EN EL EXTRACTO MADRE DE AJO SACHA

En la figura 2, se muestran los resultados de la cantidad de polifenoles totales presentes en el ajo sachá (*Mansoa alliacea*)



Fuente: Hidalgo (2018).

Figura 2. Contenido de Polifenoles Totales (mg A. gálico/L) en extracto acuoso, alcohólico y mixto en ajo sachá.

Los metabolitos determinados como polifenoles totales en masa seca obtenido de un extracto madre de (0,43 g/mL) fueron $7816,21 \pm 0,19$ mg AG/L, $7016,29 \pm 0,04$ mg AG/L y $7008,51 \pm 0,18$ mg AG/L de los extractos: acuoso (Extracto 1), etanólico (Extracto 2) y mixto (extracto 3), respectivamente.

El contenido de polifenoles en el extracto acuoso fue significativamente superior ($p < 0,05$) al extracto etanólico y mixto; sin embargo, Pérez *et al.*, (2013), al realizar la extracción de compuestos polifenólicos de la cáscara de lima (*Citrus limetta* Risso), encontraron que, el etanol fue el disolvente que presentó concentraciones más bajas de polifenoles, seguido por

el agua; el disolvente que mejores resultados presentó fue la mezcla de etanol con agua (70:30) aunque la extracción involucró la influencia de temperatura.

Los niveles de extracción de polifenoles en el ajo sachá, extraídos con disolventes de diferente polaridad tuvieron similar comportamiento a los reportados por Brujin *et al.*, (2009), quienes informaron que, para la extracción de polifenoles presentes en las plantas, el orden de solventes es: agua > etanol > acetona.

Coulson y & Richardson (2003) manifiesta “La polaridad de los solventes empleados influye directamente sobre la concentración de polifenoles extraídos; a mayor polaridad, mayor concentración de polifenoles”. En la presente investigación, el agua demostró ser una molécula muy polar, mientras que la mezcla de etanol-agua fue moderadamente polar.

De forma general, el extracto de ajo sachá podría ser un potencial candidato para la obtención de compuestos fenólicos de interés para la salud humana, de este modo, se podría aplicar en la industrias alimentaria y farmacéutica mediante el diseño de productos asociadas al estrés oxidativo.

Existen varias investigaciones referentes al estudio del ajo sachá, sin embargo, no se reportan estudios enfocados al contenido de polifenoles totales. Suarez *et al.*, (2014) al investigar la actividad antioxidante in vitro de un extracto acuoso de ajo *Allium Sativum* variedad Huaralino perteneciente a la familia de las *alliacea* al igual que la *Mansoa alliacea*, reportaron resultados para los polifenoles y flavonoides fue $2,52 \pm 0,01$ mg EAG/ g masa seca y $1,71 \pm 0,00$ mg EQ/g masa seca, respectivamente. En su investigación analizaron además el contenido de polifenoles en medio metanólico (1,45 mg EAG/ g masa seca); llegaron a la conclusión que, el extracto acuoso fue significativamente superior ($p < 0,001$) al extracto metanólico; lo que significa que, para la determinación de polifenoles, en el caso del ajo investigado y el ajo de la presente investigación estos metabolitos secundarios son principalmente hidrosolubles.

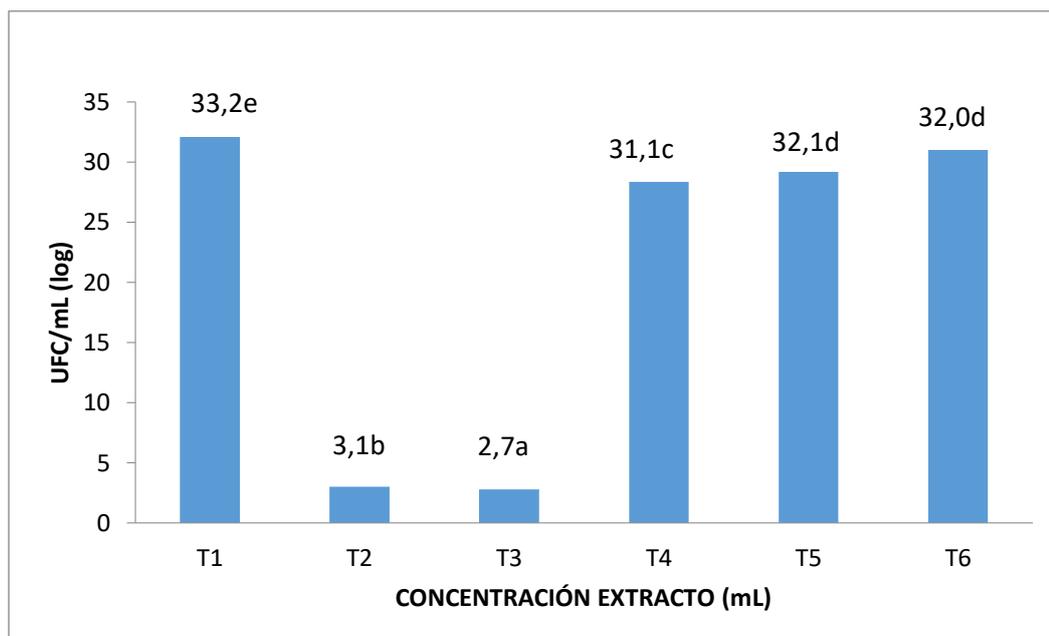
4.2. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL EXTRACTO ACUOSO DE AJO SACHA.

Para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de extractos de ajo sachá mediante la técnica de siembra en placa, los resultados obtenidos se presentan en la Tabla.

Tabla 7. Determinación de la CMI de extracto de ajo sachá sobre *Escherichia coli*

	CONCENTRACIÓN (mL)	TURBIDEZ
T1	0	+++
T2	10^{-1}	-
T3	10^{-2}	-
T4	10^{-3}	++
T5	10^{-4}	+++
T6	10^{-5}	+++

(+) baja turbidez; (+++) alta turbidez



Fuente: Hidalgo (2018).

Figura 3. Concentración mínima inhibitoria del extracto de ajo sachá sobre el crecimiento de *E. coli*. (a,b,c,d,e) Indica una diferencia estadísticamente significativa en forma individual y en conjunto ($p < 0,05$).

Los resultados obtenidos mostraron que, después del tiempo de incubación, los extractos tuvieron efecto sobre el crecimiento de los cultivos, observándose una turbidez marcada en los tubos al 0, 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} mL de extracto, mientras que, las concentraciones 10^{-1} y 10^{-2} , no evidenciaron turbidez.

La determinación del nivel de turbidez de los cultivos como una medida para evidenciar el efecto antibacteriano de los extractos fue validada por la medición de las CFU/mL, parámetro que permitió determinar la cantidad de bacterias vivas remanentes (Fig. 3). Los tratamientos mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$) siendo T1 y T2 los que mostraron menor crecimiento.

Sotelo *et al.*, (2010) evaluaron el efecto de los polifenoles extraídos del borjón, los resultados obtenidos sobre el extracto del fruto del borjón presentaron un contenido de polifenoles con valores entre 600 y 800 mg AG/100g, y significativa actividad antimicrobiana frente a las bacterias patógenas humanas de *E. coli*.

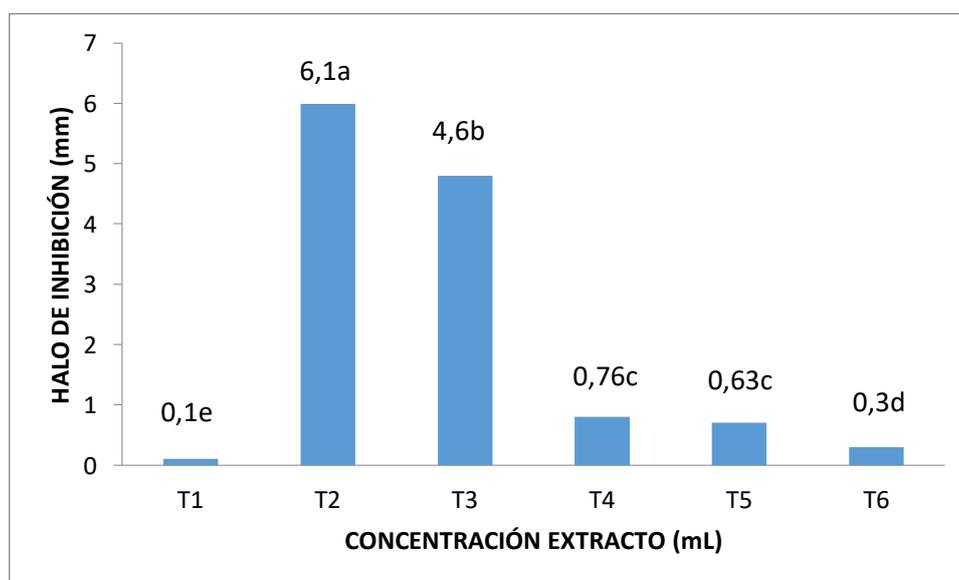
Leyva *et al.*, (2013) demostraron el efecto inhibitorio de los distintos extractos de *Phellinus (Murril)* Ryvarden con un contenido de fenoles encontrada extracto metanólico y las fracciones polar y no polar de 913.91, 257.89 y 254.50 mgAG/g, respectivamente). En este estudio observaron diferencias ($P < 0,05$) entre extractos y concentraciones, siendo la concentración de 4,2 mg/mL de cada uno de los distintos extractos la que presentó un 100% de inhibición contra *Escherichia coli*.

Así, se observó en el presente estudio que, cantidades de mayor concentración de extracto acuoso que contiene $7816,21 \pm 0,19$ mg AG/L, producen una evidente reducción de la cantidad de bacterias vivas, lo que se puede suponer el ácido gálico tiene un efecto bactericida sobre *E. coli*.

En el presente estudio el comportamiento fue muy similar a las investigaciones que reportaron la actividad antimicrobiana de los extractos ricos en compuestos polifenólicos.

esta actividad puede atribuirse a la acción de los compuestos de carácter fenólico que ejercen efectos sinérgicos, formando un fitocomplejo activo en la inhibición microbiana (Sotelo *et al.*, 2010).

En el caso de la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto de ajo sachá mediante la medición del halo de inhibición del crecimiento de *E. coli.*, se midieron los diámetros de los halos de inhibición que se formaron. La figura 4, muestra el diámetro de los halos de inhibición observándose diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los tratamientos, siendo el T1 quien mostró el halo de inhibición menor (0,1 mm) y los tratamientos T2 y T3 los valores más altos de 6,2 y 4,8 mm respectivamente.



Fuente: Hidalgo (2018).

Figura 4. Diámetro de los halos de inhibición de crecimiento del cultivo de *E. coli.* En función de la concentración de extracto de ajo sachá. (a,b,c,d,e) Indica una diferencia estadísticamente significativa en forma individual y en conjunto ($p < 0,05$)

Al analizar los valores obtenidos en la presente investigación se puede evidenciar que el efecto de los extractos ricos en compuestos polifenólicos son capaces de inhibir el crecimiento microbiano en un espectro de 6,2 mm a una concentración de 10^{-1} mL (0,043 mg A. Gálico/L). Estos resultados son corroborados por los obtenidos por Sotelo *et al.*, (2010), quienes encontraron halos de inhibición de 13 mm con concentraciones de polifenoles de 750 ± 15 mg A. Gálico/100 g de extracto de borjój seco. Al-Fatimi *et al.*,

(2007) reportaron un halo de inhibición de 8 mm de diámetro y es indicativo de prueba positiva de inhibición microbiana para *E coli*; Albayrak *et al.*, (2010) encontraron halos de inhibición significativa, mayores de 6 mm. Alberto *et al.*, (2006) en cáscara de manzana *Malus común* L. (7 mm) y manzana royal (4 mm), Wang *et al.*, (2008) para hojas de tabaco *Nicotiana tabacum* L. (20,23 mm), y por Estevinho *et al.*, (2008) en extractos de miel (9 mm).

Estas diferencias pueden atribuirse a que los extractos que presentan mayores halos de inhibición pueden contener mayor concentración de polifenoles, lo que indicaría una relación directa entre el contenido de polifenoles y el efecto antimicrobiano de los extractos (Sotelo *et al.*, 2010).

Con respecto a la determinación del CMI del extracto acuoso utilizados en *Aspergillus niger*, los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8. Efecto del extracto de ajo sachá en el crecimiento de *Aspergillus niger*,

	CONCENTRACIÓN (mL)	CRECIMIENTO FÚNGICO (radio mm)
T2	10^{-1}	$9,7 \pm 0,10^a$
T3	10^{-2}	$12,3 \pm 0,26^b$
T4	10^{-3}	$24,1 \pm 0,3^c$
T5	10^{-4}	$28,3 \pm 0,15^d$
T6	10^{-5}	$32,6 \pm 0,25^e$
T1	0	$35,7 \pm 0,26^f$

(a,b,c,d,e,f) Indica una diferencia estadísticamente significativa en forma individual y en conjunto ($p < 0,05$).

Se puede observar que el crecimiento difiere significativamente en todos los tratamientos ($P < 0,05$), determinado que el tratamiento T2 presenta el menor crecimiento, seguido por el tratamiento T3; mientras que el mayor tratamiento lo evidenció el tratamiento control T1.

El T2 en la cual se puede observar que el extracto acuoso de ajo sachá presentó mayor actividad biológica contra el hongo en estudio, demostró tener mayor inhibición del hongo

y redujo la velocidad de crecimiento. El extracto acuso de ajo sachá, confirma tener gran actividad biológica fungistática para *Aspergillus niger*, mostrando inhibición total a 0,043 mg Ácido Gálico /L.

Es importante mencionar que, no se encontraron referencias bibliográficas de la actividad antifúngica de extractos acuosos de ajo sachá, por lo que los resultados obtenidos fueron comparados con los resultados obtenidos por Macas & Mendez (2012) quienes evaluaron el efecto de los polifenoles naturales del Guarango (*Caesalpinia spinosa*) sobre *A. niger*, con un efecto degradativo de 63,45 % con concentraciones de 2,84 ppm de polifenoles.

Estos resultados obtenidos en la presente investigación demuestran que es atribuible realizar nuevas investigaciones con extracto de ajo sachá para demostrar la potencialidad de la especie presente en la región amazónica y ser utilizada como antifúngico.

El extracto de ajo sachá que presentó la mejor concentración mínima inhibitoria tanto en bacterias *E coli* como en el hongo de la especie *Aspergillus niger*, fue el tratamiento T2 que presentó una concentración de polifenoles totales de 0,43 mg Ácido Gálico g/L, que posteriormente fue utilizado para la preparación de un agente antioxidante y antimicrobiano y su evaluación en las características físico químicas de la carne de pollo.

4.3. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES NIVELES DE EXTRACTO DE AJO SACHA EN LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, QUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DE LA CARNE DE POLLO

Para la evaluación de la capacidad antioxidante y antimicrobiana del extracto de ajo sachá se evaluaron los parámetros físicos químicos y microbiológicos en muslos de pollo adquiridos en el supermercado. Se empleó concentraciones de 0%, 1% 1,5% de ajo sachá, los análisis se realizaron a los 0 y 10 días de almacenamiento.

Para el análisis del pH de los muslos de pollo en el período de almacenamiento mostró diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0,05$) excepto los tratamientos a los 0 días

de almacenamiento que no mostraron significancia entre sí. Se observó un incremento en el pH a los 10 días de almacenamiento en todos los tratamientos alcanzando el valor más alto el C0T2 que corresponde al tratamiento control. El tratamiento que mostró el menor cambio de pH fue C2T2 que corresponde al tratamiento al 1,5% de extracto acuoso de ajo sachá (Tabla 9).

Frazier & Wethoff (1985) mencionan “Los alimentos proteicos suelen experimentar alcalinización durante el almacenamiento, provocada por la frecuente liberación de grupos amino, resultado de una hidrólisis de las proteínas, que puede ser causada por reacciones bioquímicas naturales o por el crecimiento de bacterias”. Es probable que el incremento en el pH de los muslos de pollo en la presente investigación se debe al crecimiento de bacterias proteolíticas.

Un estudio realizado por Fabre *et al.*, (2014), determinaron la estabilidad de la carne de pollo marinadas y sin marinar, los resultados obtenidos en cuanto al valor de pH fueron de 5,72 y 5,61 a los 90 días de almacenamiento en congelación de pechugas marinadas y sin marinar respectivamente, lo que evidencia que existió una hidrólisis proteica por el incremento de pH.

Barreiro & Sandoval, (2006) manifiestan “Los microorganismos psicrótrofos corresponden a microorganismos que se desarrollan a bajas temperaturas, independientemente de la óptima, en carne de pollo mantenida en refrigeración se incrementan entre los 4 y 10 días. Poseen capacidad para sintetizar enzimas proteolíticas y lipolíticas que afectan las características organolépticas de los alimentos durante su almacenamiento”

La actividad proteolítica en los tratamientos con adición de extracto de ajo sachá pudo verse disminuido por la presencia de compuestos polifenólicos presentes, como lo manifiesta Sánchez *et al.*, (2003) al reportar el empleo de capsaicina del chile y licopeno del jitomate, compuestos biológicamente activos semejantes a polifenoles como antioxidantes en productos cárnicos procesado.

Con respecto al índice de peróxido, la influencia de la adición de extracto de ajo sachá en la oxidación de lípidos durante el almacenamiento de carne de muslo de pollo se puede observar en la tabla 9.

La determinación del índice de peróxidos se realizaron en el muslo, debido a que el contenido de grasa es mayor en este corte que en el músculo pectoral (Hashim *et al.*, 2013). Al inicio del estudio (día 0) la carne presentó oxidación de lípidos menor que en el día 10, con diferencias significativas ($P < 0,05$). Los tratamientos al inicio del estudio no mostraron diferencias significativas entre sí.

El tratamiento que presentó menor índice de peróxido fue el tratamiento C2T2 que corresponde al extracto de ajo sacha al 1,5% y el mayor índice de peroxidación lo reportó el tratamiento control.

Tabla 9. Efecto de la concentración de extracto de ajo sacha en el pH e Índice de Peróxidos

TRATAMIENTOS	Ph	ÍNDICE PERÓXIDOS
		(mEO/Kg)
C2T1	6,07±0,04 ^a	1,65±0,09 ^a
C1T1	6,15±0,03 ^a	1,74±0,06 ^a
C0T1	6,21±0,05 ^a	1,79±0,19 ^a
C2T2	6,73±0,05 ^b	7,95±0,43 ^b
C1T2	6,85±0,08 ^{bc}	11,48±0,52 ^c
C0T2	7,00±0,09 ^c	12,39±0,34 ^d

(a,b,c,d.) Indica una diferencia estadísticamente significativa en forma individual y en conjunto ($p < 0,05$)

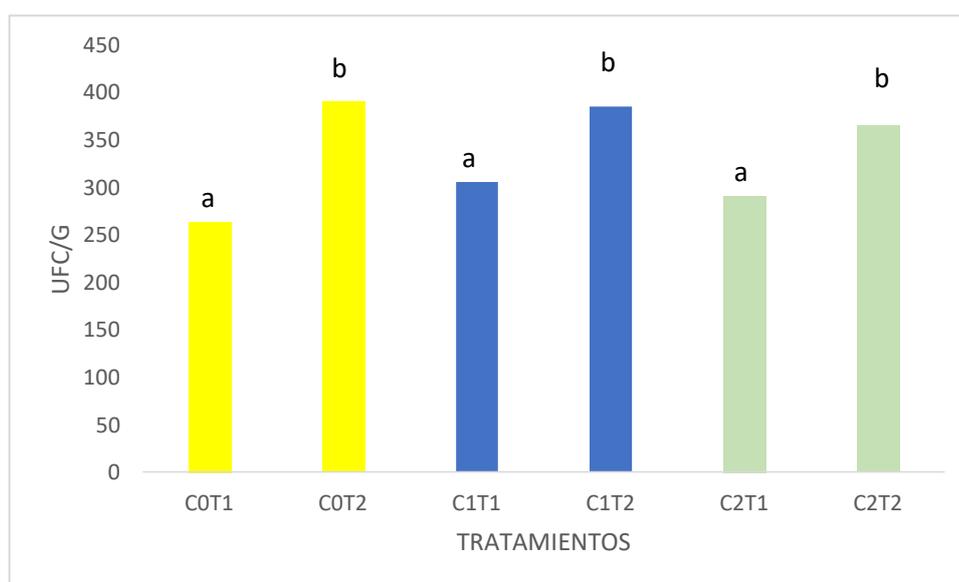
El índice de peróxidos señala en qué grado se ha tenido una oxidación de los ácidos grasos debido a los procesos lipolíticos y autooxidativos en un alimento (Belitz y Grosch, 2009).

Sobre el valor de peróxido indicativo de oxidación, el Codex Alimentario (2012) acepta como valor umbral de detección 10 miliequivalentes de peróxido por kg de grasas o aceites con propósitos comestibles.

Lutterodt *et al.*, (2010) manifiestan “La presencia de los elevados niveles de ácidos grasos insaturados juega un papel fundamental y determinante en la estabilidad oxidativa, lo que sugiere que otros factores como, el contenido de polifenoles y otros antioxidantes de origen natural pueden contribuir a la estabilidad oxidativa”.

La presencia de polifenoles en el extracto de ajo sacha en concentraciones superiores a 1,5% permitió disminuir los radicales libres presentes en el muslo de pollo.

El recuento total de aerobios mesófilos determinados en la presente investigación se muestran en la figura 5.



Fuente: Hidalgo (2018).

Figura 5. Efecto de la adición de extracto de ajo sacha en el crecimiento de aerobios mesófilos. (a,b) Indica una diferencia estadísticamente significativa en forma individual y en conjunto ($p < 0,05$).

El recuento de bacterias mesófilas aerobias no presentó cambios estadísticamente significativos, ($p > 0,05$) para los tratamientos al tiempo 0 días y 10 días, se puede observar que el recuento de bacterias mesófilas en muslos de pollo, se encontraron en un rango de 320 a 410 UFC/g a los 0 días, mientras que los tratamientos con extracto de ajo disminuyeron en un rango de 360 a 390 UFC/g a los 10 días. Esto podría verse afectado por la presencia de polifenoles en el extracto de ajo sacha que debieran conferir actividad antibacteriana y antifúngica e inhibir su crecimiento.

Hac-Szmanczuk *et al.*, (2011) demostraron la importancia de analizar bacterias mesófilas en productos cárnicos, debido a que estas bacterias presentan menos sensibilidad a los conservantes naturales, lo que se concluye que lograr una esterilidad en los productos es imposible; por tal razón la INEN permite un alto número de bacterias mesófilas.

Los resultados encontrados en la presente investigación se encuentran dentro de los rangos permitidos por la norma.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES

- Se pudo establecer la metodología para la obtención de polifenoles a partir de 500 g de ajo sachá en muestra seca, obtenido por maceración en relación de 1:4, durante 10 días con agitación cada 6 horas. El extracto que presentó mayor rendimiento y mayor concentración de polifenoles fue el extracto acuoso, estandarizado a 0,43 g/mL.
- El contenido de polifenoles del extracto acuoso, presentó diferencias significativas ($P < 0,05$) respecto a los polifenoles encontrados en el extracto etanólico y mixto con valores de $7816,21 \pm 0,19$ mg AG/L, $7016,29 \pm 0,04$ mg AG/L y $7008,51 \pm 0,18$ mg AG/L respectivamente.
- La concentración mínima inhibitoria del extracto de ajo sachá sobre el crecimiento de *E coli*, fue significativo entre los tratamientos ($P < 0,05$), la dilución que presentó el menor crecimiento de *E coli*, ($3,1 \times 10^7$ UFC/mL) fue el T2 en dilución de 10^{-2} ml extracto. La determinación del halo de inhibición (6,22 mm de diámetro) corroboró que el T2 fue el de mejor inhibición bacteriana. Similar comportamiento presentó el T2 con respecto al crecimiento fúngico de *Aspergillus niger*, que obtuvo un diámetro de colonia de $9,7 \pm 0,10$, significativo frente a los otros tratamientos ($P < 0,05$).
- El efecto de la aplicación del extracto acuoso sobre las características físicas, químicas y microbiológicas en muslos de pollo evidenció que, el tratamiento al 1,5% de extracto a los 10 días de almacenamiento en refrigeración a 4°C (C2T2) alcanzó menor variación de pH con valores de $6,73 \pm 0,05$ con diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0,05$), a excepción del tratamiento C1T2, mientras que el índice de peróxido fue significativo en todos los tratamientos ($P < 0,05$), siendo el de menor variabilidad el tratamiento C2T2 con un valor de $7,95 \pm 0,43$ mE/Kg.
- La determinación de aerobios mesófilos en muslos de pollos, no presentó diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$).

CAPÍTULO VI

6. RECOMENDACIONES

- Es importante profundizar en el estudio de la actividad antioxidante del ajo sachá por cuanto no se encuentran estudios del vegetal a pesar de contener importante contenido de polifenoles.
- Realizar estudios de la actividad antioxidante en otras especies animales, con el fin de mejorar las técnicas de almacenamiento, en especial de carnes grasas.
- Comprobar el efecto antioxidante en combinación con métodos de conservación físico como el envasado al vacío o atmósferas modificadas.
- Aplicar los extractos de ajo sachá en el diseño de nuevos productos destinados a la salud humana.

BIBLIOGRAFÍA

- Albayrak, S., Aksoy, A., Sagdic, O., Hamzaoglu, E. (2010). Compositions, antioxidant and antimicrobial activities of Helichrysum (Asteraceae) species collected from Turkey. *Food Chem.* 119 (1), 114 – 122.
- Alberto, M., Rinsdahl, M., Manca, M. (2006). *Antimicrobial effect of polyphenols from Apple skins on human bacterial pathogens.* *Electronic Journal of Biotechnology.* 9(3), 1-5.
- Al-Fatimi, M., Wurster, M., Schroder, G., Lindegust, U. (2007). *Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of selected medicinal plants from Yemen.* *Journal of ethnopharmacology,* 111(3), 657–666.
- Al-Hasani, K., Henderson , I R., Sakellaris, H., Rajakumar, K., Grant, T., Nataro, J P.(2000). *The sigA gene, which is borne on the she pathogenicity island of Shigella flexneri 2a, encodes an exported cytopathic protease involved in intestinal fluid accumulation.* *Infect Immun.*68: 2457-63.
- AOAC Internacional. (2002), *Official methods of anlysis.* USA. Gaithersburg
- Argyri, A., Panagou, E., Nychas, G. (2012) *Advances in vacuum and modified atmosphere packaging of poultry products: Advances in meat, poultry and seafood packaging.* Woodhead Publishing. *Technology and Nutrition.* 2: 205-247.
- Armenteros, M., Ventanas, S., Morcuende, D., Estévez y Ventanas, J. (2012). *Empleo de antioxidantes naturales en productos cárnicos.* Recuperado de <http://www.eurocarne.com/daal/al/boletinimagenes/a2/20705.pdf>.
- Arroyo, DS., Gaviglio. EA., Peralta-Ramos, JM., Bussi,C., Rodríguez-Galán, MC., Iribarren, P.(2014) *Autophagy in inflammation, infection, neurodegeneration and cancer.* *Int Immunopharmacol.* 8(1), 55-65.
- Badui, S. (2013). *Química de los Alimentos.* Naucalpan de Juárez, México: Pearson
- Barreiro, J., y Sandoval, A. (2006). *Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas.* Caracas. Equinoccio
- Belitz, H.D., Grosch,W y Schieberle, P. (2009). *Química de Alimentos.* Zaragoza, España. Springer.
- Boerlin, P., Mcewen ,S A., Boerlin-Petzold, F., Wilson, J B., Johnson, R P., Gyles, C I. (2009). *Associations between virulence factors of Shiga toxin-producing Escherichia coli and disease in humans.* *J Clin Microbiol.* 37: 497-503.

- Brujin, J., Loyola, C., Aqueveque, P., Cañumir, J., Cortéz, M., France, A. (2009). *Antioxidant properties of extracts obtained from Grifola gargal mushrooms*. *Micol Apl Int.* 21(1), 11-18.
- Calero, A. (2010). *Evaluación agroindustrial del ajo de monte*. Recuperado a partir de <http://www.sobre-hierbas.com/Ajo-sacha.html>
- Casu, B., Molyneux, P. (2003). "A Comparative Study of Efficiency in European Banking." *Appl Econ* 35(17), 1865-1876.
- Codex Alimentarius. Codex Alimentarius. 2012. Recuperado de <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/about-codex/en/>
- Conner, D.E. (1993). *Antimicrobials in foods*. New York. Oxford University Press.
- Cortinas Hernández, L. (2004). *Niveles de ácidos grasos poliinsaturados y α -tocoferol en el pienso de broilers: equilibrio entre composición lipídica y estabilidad oxidativa de la carne* (Tesis Doctoral). Universidad Autónoma de Barcelona, España.
- Coulson, J. M. y Richardson, J. F. (2003). *Ingeniería química, operaciones básicas*. España: Reverté, S. A.
- Davidson, P.M. (2001). *Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds*. En: *Food Microbiology: and Fundamentals and frontiers*, Washington, D.C., USA. TJ Montville, 29, 593-627
- Descalzo, A. M., and A. M. Sancho. (2008). *A review of natural antioxidants and their effects on oxidative status, odor and quality of fresh beef produced in Argentina*. *Meat Sci.* 79, 423-436
- Drovcic, S., Milenkovic, N.M. (2006). *Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of Carlina acanthifolia root essential oil*. *Journal of Ethnopharmacology.* 109, 458- 463.
- Eklund, T. 1989. *Organic acids esters. Mechanisms of action of food Preservation Procedures* En: G.W Gould Ed. Elsevier Applied Scien.Londres. pp 161-200
- Encalada, M. (2011). *Detección de hongos en la cama avícola, causantes de micosis en los pollos de ceba*. *REDVET.* 12(6), 1-21
- Estévez, M., Kylli, P., Puolanne, E., Kivikari, R., Heinonen, M. (2008). *Oxidation of skeletal muscle myofibrillar proteins in oil-in-water emulsions: Interaction with lipids and effect of selected phenolic compounds*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: (22), 33-40.
- Estevinho, L., Pereira, AP., Moreira, L, Días, LG, Pereira E. (2008). *Antioxidant and antimicrobial effects of phenolics compounds extracts of Northeast Portugal honey*. *Food Chem Toxicol.* 46: 3774-3779.

- Eydelnant, A y Tufenkji, N. (2008). *Cranberry derived proanthocyanidins reduce bacterial adhesion to selected biomaterials*. Langmuir Research. 24(18)273.281
- Fabre, R., Perlo, F., Bonato, P., Tito, Blas., Teira, G., Tisocco, O. (2014). *Efecto de las condiciones de conservación sobre la calidad de pechugas de pollo* Ciencia, Docencia y Tecnología. 25(49), 143-153.
- FAO. (2015). *Composición de la carne*. Obtenido de http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/backgr_composition.html
- Faustman, C., Sun, Q., Mancini, R. and Suman, S.P. (2010). *Myoglobin and lipid oxidation interactions: mechanistic bases and control*. Meat Sci. 86; 86-94.
- Fernández, M., Marsó, M. (2003). *Estudio de la carne de pollo en tres dimensiones: valor nutricional, representación social y formas de preparación*. Recuperado de <http://www.nutrinfo.com/pagina/info/pollo.pdf>
- Fitzgerald, D., Stratford, M., Narbad A. (2003). *Analysis of the inhibition of food spoilage yeasts by vanillin*. International Journal of Food Microbiology. 86, 113-122.
- Frankel, E.N. (2005). *Lipid Oxidation*. The Oily Press, Inglaterra: Bridgwater.
- Frazier, W. y Wethoff, D. (1985). *Microbiología de los Alimentos*. Zaragoza, España. Acribia S.A.
- Ganhão, R., Morcuende, D. y Estévez, M. (2010). *Protein oxidation in cooked burger patties with added fruit extracts: influence on colour and texture deterioration during chill storage*. Meat Science, 85, 402-409,
- García A, L., Brugnini, G., Rodríguez, S., Mir, A., Carriquí, J., Rufo, C., Briano, B. (2015) *Vida útil de carne fresca de res envasada al vacío a 0°C y 4°C*. Producción Agropecuaria y Desarrollo Sostenible. 5(2), 27- 35.
- García, ASS., Walter, RP., Tawfik, IK., y Yamamoto, SM. (2005). *Características da qualidade da carne de ovinos de diferentes genótipos e idades o abate*. Revista Brasileira de Zootecnia. 34(3), 1070- 1078.
- García, M., De Palcual, T., Santos-Buelga, C., Rivas, G., (2004). *Evaluation of the antioxidant properties of fruit*. Food Chemistry. 84, 13-18.
- Gómez, L.J., Figueroa, O.A., Zapata, J.E. (2013). *Actividad antioxidante de hidrolizados enzimáticos de plasma bovino obtenidos por efecto de Alcalasa 2.4 L*. Información tecnológica, 24(1), 33-42.
- Gyawali, R., Ibrahim, SA., Abu Hasfa, SH., Smqadri, SQ., Haik, Y. (2011). *Antimicrobial activity of copper alone and in combination with lactic acid against Escherichia coli*

- O157: H7 in laboratory medium and on the surface of lettuce and tomatoes.* Journal of Pathogens. 201, 84-91.
- Hashim, I., Hussein, A y Afifi, Hanan. (2013). *Quality of breast and thigh meats when broilers are fed rations containing graded levels of sugar syrup.* Poultry science. 92. 195-200.
- Hayek, S. A., Gyawali, R., y Ibrahim, S. A. (2013). Antimicrobial natural products. In A. Méndez-Vilas (Ed.), *Microbial pathogens and strategies for combating them: Science, technology and education* (2). 910-921.
- Hyldgaard, M., Mygind, T., Meyer, R. L. (2012). *Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components.* Frontiers in microbiology, 1-24.
- Iglesias Neira, (2009). *Diseño de ingredientes antioxidantes de origen natural y su aplicación.* Recuperado de file:///C:/Users/Ana/Downloads/content.pdf
- Isaza, Y., Restrepo, D., López, J., Ochoa, O., y González, J. (2012). *Capacidad antioxidante, a los 10 días de almacenamiento, de sistemas modelo de salchicha tipo frankfurt adicionadas con extracto de cereza (prunusaviuml.).* Revista de la Facultad de Ingeniería Universidad Central de Venezuela. 27(2), 21-29.
- Jay, J. M. (2000). *Modern Food Microbiology.* Gaithersburg, Maryland. Aspen Publication, Inc.
- Jeantet, R., Croguennec, T., Schuck, P., y Brulé, G. (2013). *Ciencia de los Alimentos,* Zaragoza, España: Acribia
- Kobus, C., Flaczyk, E., Rudzinska, M., Kmiecik, D. (2014). Antioxidant properties of extracts from Ginkgo biloba leaves in meatballs. Meat Sci. 2014;97:174-80.
- Larrañaga, I., Carballo, J., Rodríguez, M., Fernández, J. (1999). *Control e Higiene de los Alimentos.* España, McGraw Hill / Interamericana S. A.
- Larrauri, M., Zunino, M.P., Zygadlo, J.A., Grosso, N.R., Nepote, V. (2016.) *Chemical characterization and antioxidant properties of fractions separated from extract of peanut skin derived from different industrial processes.* Industrial Crops and Products. 94: 964-971.
- Leyva, J., Pérez, J., González, A., Esqueda, M., Ayala, F. (2013). *Funcionalidad antibacteriana y antioxidante de extractos hidroalcohólicos de Phellinus merrillii.* Revista mexicana de micología. 37, 11-17
- Lund, M.N., Heinonen, M., Baron, C. P., Estévez, M. (2011). *Protein oxidation in muscle foods: a review.* Mol. Nutr. Food Res., 55, 83-95.

- Lutterodt, H., Luther, M., Slavin, M., Yin, J., Parry, J., Gao, J., Yu, L. (2010). *Fatty acid profile, thymo quinone content, oxidative stability, and antioxidant properties of cold-pressed black cumin seed oils*. LWT-Food Sci. Technol. 43: 1409-1413.
- Macas, A., y Mendez, G. (2012). *Evaluación de la capacidad biotransformadora de taninos del guarango (Caesalpinia spinosa) a través de trametes versicolor y aspergillus niger*. (Tesis pregrado). Universidad Tecnica salesiana de Quito. Ecuador.
- Manzocco, L., Anese, M., Nicoli, MC. (1998). *Antioxidant properties of tea extracts as affected by processing*. LWT, 31, 694-698.
- Melgarejo, Z.M. (1998). *Aplicación de los antioxidantes como aditivos*. Tesis profesional. Universidad Veracruzana, México
- Moreno, R. (2015). *Calidad de la carne de pollo*. Recuperado de http://www.wpsaaeca.es/aeca_imgs_docs/calidad.pdf.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrilhidrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin Journal of science and technology 26(2):211-219.
- Muñoz, E., Rivas, K., Loarca, M., Mendoza, S., Reynoso, R., Ramos, M. (2004). *Comparación del contenido fenólico, capacidad antioxidante y actividad antiinflamatoria de infusiones herbales comerciales* Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 3(3), 126-132.
- Negi, P. (2012). *Plants extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application*. Int J Food Microbiol. 156:7-17
- Nerín, C., Tovar, L., Djenane, D., Camo, J., Salafranca, J., Beltran, J., Roncalés, P. (2006) *Stabilization of beef meat by a new active packaging containing natural antioxidants*. J Agric Food Chem. 52:5598-605.
- Ospina, S., y Cartagena, J. (2008). *La atmósfera modificada: una alternativa para la conservación de los alimentos*. Lasallista de Investigación, 5 (2), 122-123.
- Pérez, V.C., Lugo, E.C., Gutiérrez, M., del Toro-Sánchez, C.L. (2013). *Extracción de compuestos fenólicos de la cáscara de lima (Citrus limetta Risso) y determinación de su actividad antioxidante*. Rev. Biotecnia. 10(3), 18-21.
- Pérez, C., Gómez-Duarte, O G., Arias, M L. (2010) *Diarrheagenic Escherichia coli in children from Costa Rica*. Am J Trop Med Hyg. 83: 292-297.

- Pérez, D y Andújar, G. 2000. *Cambios de coloración de los productos cárnicos*. Instituto de Investigaciones para la Industrias Alimenticias. Rev. Cubana Aliment.Nutr. 3(5), 23-45.
- Reyes, F., Jurado, E. Palou., & A. López-Malo (2014). *Métodos de evaluación de la actividad antimicrobiana y de determinación de los componentes químicos de los aceites esenciales*. Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, 8(1), 68.78.
- Rodríguez, S., Sánchez, A., Martínez, JM., Prieto, JA., Rande-Gil, F. (2007). *Fluidization of membrane lipids enhances the tolerance of Saccharomyces cerevisiae to freezing and salt stress*. Appl Environ Microbiol. 73(1), 110-116.
- Roncales, P., (2010) *Optimización de los sistemas de envasado y de la conservación de alimentos*: Zaragoza
- Sánchez, A., Torrescano, D., Djenane, J. A., Beltrán, P. Roncales, P. (2003). *Stabilization of color and odor of beef patties by using lycopene-rich and peppers as source of antioxidants*. Journal of Science of Foods and Agriculture. 83: 187-194.
- Sánchez-Cabrera, y Pino, J. (2011). *Headspace solid-phase microextraction analysis of volatile compounds from spice essential oils in dry flavourings*. International Journal of Food Science and Technology, 46(10), 2118-2123.
- Sánchez-Escalante, A., Torrescano, G., Djenane, D., Beltran, J. A., Roncales, P. (2001). *Stabilisation of colour and odour of beef patties by using lycopene-rich tomato and peppers as a source of antioxidants*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 83, 187- 194.
- Sanchez, E. (2015). *Estudio del ajo de monte (Mansoa Aliácea) y sus propiedades: su uso gastronómico y medicinal en la comuna Chiguilpe de Santo Domingo de los Tsáchilas*. Revista de Ciencia y Tecnología e Innovación, 1-9.
- Shah, M., Bosco, S., Amir, S. (2014). *Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products*. Meat Sci. 98:21-33
- Sharapin, N. (2000). *Fundamentos de fitotecnología de productos fitoterapéuticos*. Colombia: Convenio Andrés Bello
- Skandamis, P.N., y Nychas, G. (2001). *Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres*. Journal of Applied Microbiology. 91:1011-1022.
- Solórzano-Santos, F. y Miranda-Novales, M. (2012). *Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents*. Current Opinion in Biotechnology, 23(2), 136-141

- Sotelo, I., N. Casas y G. Camelo. (2010). Borojó (*Borojoa patinoi*): Fuente de polifenoles con actividad microbiana. *Revista Vitae* 17(3), 329-336.
- Souza, E., Stamford, T.t., Trajano, V. (2007). *Effectiveness of Origanum vulgare L essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts*. *Food Control*, 18, 409-413.
- Stanner, S. y Weichselbaum, E. (2013). Antioxidants (pp.88-99). In Caballero B (ed.) *Encyclopedia of Human Nutrition*. Vol. 1. 3rd edition.
- Suárez de Ronderos, M. y Michelsen Rueda, J. (2004). *El papel del selenio y la vitamina E en la prevención y tratamiento del cáncer de próstata*. *Rev. Costaric. Salud Pública* 13 (4):1-14.
- Suárez, S., Castro, A., Ale, B. (2014). *Actividad captadora de radicales libres y efecto antioxidante de metabolitos secundarios del extracto acuoso del Allium sativum variedad huaralino (ajo) en modelos in vitro*. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 80(4), 308-316.
- Tanabe, H., Yoshida, M., y Tomita, N. (2002). *Comparison of the antioxidant activities of 22 commonly used culinary herbs and spices on the lipid oxidation of pork meat*. *Animal Science Journal*, 73, 389-393.
- Tejeda, A., Rosa María Montesinos C., & Guzmán, R. (2011). *Bioseparaciones*. Pearson
- Toral, O., Navarro, M., Reino, J. (2001) *Prospección y colecta de especies de interés agropecuario en dos provincias cubanas*. *Pastos y Forrajes*, 38(3), 56-63.
- Tuğba İnanç . (2012). *The Potential Application of Plant Essential Oils/Extracts as Natural Preservatives in Oils during Processing: A Review*. *Journal of Food Science and Engineering*, 1-9.
- Usseglio-Tomasset, L. (1998). *Química Enológica*. España. Mundi-Prensa.
- Valenzuela, V., Carolina., Pérez M., Patricio. (2016). *Actualización en el uso de antioxidantes naturales derivados de frutas y verduras para prolongar la vida útil de la carne y productos cárneos*. *Rev. chil. nutr.* 43(2), 188-195.
- Vásquez Valles, M., Alvarado Salinas, P., Rodríguez Haro, I., Saldaña Sevilla, W., Reyes Lázaro, W. y Vargas Huamán. A. (2014). *Efecto del aceite esencial de Origanum vulgare en la supervivencia de Staphylococcus aureus, Salmonella thypi, Salmonella parathypi y Salmonella enteritidis en carne de cerdo pasteurizada y refrigerada*. *REBIOL*; 34(1), 57-68.
- Velásquez, M., Gómez, B., Pérez, R., (2004). *El envejecimiento de los radicales libres*. *CIENCIAS*; 1: 41-42.

- Vega, M., (2001). "*Etnobotánica de la Amazonía Peruana*", Ecuador. Abya-Yala.
- Wang, Y. y Xu, B. (2008). *Effect of different selenium source* (sodium selenite and selenium yeast) on broiler chickens. *Animal feed Sci. and Technology* 114:306-314
- Weichselbaum ,E., Buttriss, JL. (2010). Polyphenols in the diet. *Nutrition Bulletin* 35:157-164.
- Wilkins, T.D., y Chalgren, S. (1976). *Medium for use in antibiotic susceptibility testing of anaerobic bacteria*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 10, 926-928.
- Zhang, D., Pan, ZH., Awobuluyi, M., Lipton, SA. (2001). *Structure and function of GABA(C) receptors: a comparison of native versus recombinant receptors*. *Trends Pharmacol Sci* 22:121- 132.

ANEXOS

ANEXO N.-1 FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA N.- 1 HOJAS DE AJO SACHA



FOTOGRAFÍA N.- 2 EXTRACTO ACUOSO



FOTOGRAFÍA N.- 3 EXTRACTO ALCOHÓLICO



FOTOGRAFÍA N.- 4 EXTRACTO MIXTO



FOTOGRAFÍA N.- 5 FILTRACIÓN DE LOS EXTRACTOS



FOTOGRAFÍA N.- 6 EXTRACTOS PARA LA DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES
TOTALES



FOTOGRAFÍA N.- 7 DETERMINACIÓN CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBIDORA



FOTOGRAFÍA N.- 8 EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y
ANTIMICROBIANA DE EN LA CARNE DE POLLO





INSTITUTO NACIONAL AUTONOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS

ESTACION EXPERIMENTAL SANTA CATALINA
DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y CALIDAD

LABORATORIO DE SERVICIO DE ANALISIS E INVESTIGACION EN ALIMENTOS

Panamericana Sur Km. 1, Cutuglagua Tlfs. 2690691-3007134, Fax 3007134

Casilla postal 17-01-340



INFORME DE ENSAYO No: 18-157

NOMBRE PETICIONARIO:	Ing. Dario Hidalgo	Particular
DIRECCION:	Ceslao Marín y Av. Los Pindos	Srta. Ana Lucia Chaffa
FECHA DE EMISION:	17 de agosto de 2018	04/08/2018
FECHA DE ANALISIS:	Del 5 al 17 de agosto de 2018	10H00
		Polifenoles
		ANALISIS SOLICITADO

ANALISIS	POLIFENOLES	IDENTIFICACIÓN
METODO	MO-LSAIA-31	
METODO REF.	CROS E Y MARIGO G. (1982/1973)	
UNIDAD	mg. Ac Gálico/L	
18-0968	7816,30	Extracto de ajo Sacha 1
18-0969	7016,30	Extracto de ajo Sacha 2
18-0970	7008,60	Extracto de ajo Sacha 3

Los ensayos marcados con Ω se reportan en base seca.

OBSERVACIONES: Muestra entregada por el cliente

[Signature]

Dr. Iván Samaniego
RESPONSABLE TÉCNICO

RESPONSABLES DEL INFORME

[Signature]

Ing. Bladimir Ortiz
RESPONSABLE CALIDAD



Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.

Los resultados arriba indicados solo están relacionados con el objeto de ensayo

NOTA DE DESCARGO: La información contenida en este informe de ensayo es de carácter confidencial. Esta dirigida únicamente al destinatario de la misma y solo podrá ser usada por este. Si el lector de este correo electrónico o fax no es el destinatario del mismo, se le notifica que cualquier copia o distribución de este se encuentra totalmente prohibido. Si usted ha recibido este informe de ensayo por error, por favor notifique inmediatamente al remitente por este mismo medio y elimine la información.



INSTITUTO NACIONAL AUTONOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS
 ESTACION EXPERIMENTAL SANTA CATALINA
 DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y CALIDAD
 LABORATORIO DE SERVICIO DE ANALISIS E INVESTIGACION EN ALIMENTOS
 Panamericana Sur Km. 1, Cutuglagua Tlfs. 2690691-3007134, Fax 3007134
 Casilla postal 17-01-340



INFORME DE ENSAYO No: 18-177

NOMBRE PETICIONARIO: Ing. Dario Hidalgo
DIRECCION: Ceslao Marin y Av. Los Pindos
FECHA DE EMISION: 11 de septiembre de 2018
FECHA DE ANALISIS: Del 11 al 27 de septiembre de 2018

INSTITUCION: Particular
ATENCION: Srta. Ana Lucia Chafia
FECHA DE RECEPCION: 11/09/2018
HORA DE RECEPCION: 10H00
ANALISIS SOLICITADO: Polifenoles

ANALISIS METODO	POLIFENOLES	IDENTIFICACION
MO-LSAIA-31		
CROSE Y MARIGO G. (1982/1973)		
UNIDAD mg. Ac Gálico/L		
18-0988	7806,30	Extracto de ajo Sacha 1
18-0989	7013,80	Extracto de ajo Sacha 2

Los ensayos marcados con Ω se reportan en base seca.
 OBSERVACIONES: Muestra entregada por el cliente

RESPONSABLES DEL INFORME

[Signature]
Dr. Iván Samaniego
RESPONSABLE TÉCNICO

[Signature]
Ing. Bledimir Ortiz
RESPONSABLE CALIDAD



Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.

Los resultados arriba indicados solo están relacionados con el objeto de ensayo

NOTA DE DESCARGO: La información contenida en este informe de ensayo es de carácter confidencial; está dirigida únicamente al destinatario de la misma y solo podrá ser usada por este. Si el lector de este correo electrónico o fax no es el destinatario del mismo, se le notifica que cualquier copia o distribución de este se encuentra totalmente prohibido. Si usted ha recibido este informe de ensayo por error, por favor notifique inmediatamente al remitente por este mismo medio y elimine la información.