

Technical note on physicochemical and organoleptic indicators of orito banana (*Musa acuminata* AA) rachis silage

Nota técnica sobre indicadores fisicoquímicos y organolépticos del ensilado de raquis de banano orito (*Musa acuminata* AA)

W. Caicedo^{1,4}, Derwin Viáfara², M. Pérez¹, F.N.A. Ferreira³, Karla Pico⁴, Kely Cachago⁴ and W.M. Ferreira⁵

¹*Departamento de Ciencias de la Tierra, Universidad Estatal Amazónica. Puyo, Pastaza, Ecuador.*

²*Laboratorio de Bromatología, Universidad Estatal Amazónica. Puyo, Pastaza, Ecuador.*

³*Technical Services Department, Agroceres Multimix, 1411 01JN St., 13502-741, Rio Claro, São Paulo, Brazil*

⁴*Granja Agropecuaria Caicedo. Puyo, Pastaza, Ecuador*

⁵*Departamento de Ciencia Animal, Universidad Federal de Minas Gerais. Av. Antônio Carlos, 6627, 31270-901, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil*

Email: orlando.caicedo@yahoo.es

W. Caicedo <https://orcid.org/0000-0002-2890-3274>

M. Pérez <https://orcid.org/0000-0001-9071-5939>

F.N.A. Ferreira <http://orcid.org/0000-0002-2225-1674>

W.M. Ferreira <http://orcid.org/0000-0003-0104-0736>

In order to determine the physicochemical and organoleptic indicators of orito banana (*Musa acuminata* AA) rachis, treated with whey, a completely randomized design was applied with seven treatments: natural (control) and fermented (0, 1, 4, 8, 15 and 30 d). Results showed the highest ($P < 0.05$) pH values on day zero (4.91); crude protein on days eight (16.12 %), 15 (16.07%) and 30 (16.07 %); total phenols on day 30 (323,361.91 $\mu\text{Mol GAE}/100 \text{ g DM}$) and antioxidant activity on day eight (29,595.62 $\mu\text{Mol TROLOX}/100 \text{ g DM}$). Silage had a sweet smell (days zero and one) and a mild acidity (days four, eight, 15 and 30). It showed a light brown color and solid consistency. It is concluded that, through orito banana rachis fermentation, improvements were achieved for contents of crude protein, total phenols and antioxidant activity, which makes possible to obtain a functional food that can be used for animal feed.

Key words: *animal feed, fermentation, total phenols, banana residues*

Orito banana is produced throughout the year in the Ecuadorian Amazon region. After consuming this fruit, residues are generated, including peel and rachis, which do not receive adequate treatment for their use in animal feed. Different studies have reported the presence of proteins, lipids, fiber and compounds with antioxidant capacity in these by-products, as well as phytochemical compounds with activity against free radicals (Blasco-López and Gómez-Montaño 2014).

Studies carried out with banana peel and pulp reported that these by-products contain several antioxidant compounds, such as gallic acid, alkaloids, flavonoids, tannins, phenolic compounds, and dopamine (Blasco-López and Gómez-Montaño 2014). In the nature, alkaloids and tannins inhibit nutrient absorption, and for their efficient use, drying,

Para determinar los indicadores fisicoquímicos y organolépticos del ensilado de raquis de banano orito (*Musa acuminata* AA), tratado con suero de leche, se aplicó un diseño completamente aleatorizado con siete tratamientos: natural (control) y fermentado (0, 1, 4, 8, 15 y 30 d). Los resultados mostraron los mayores ($P < 0.05$) valores de pH en el día cero (4.91); proteína bruta en los días ocho (16.12 %), 15 (16.07 %) y 30 (16.07 %); fenoles totales el día 30 (323361.91 $\mu\text{Mol EAG}/100 \text{ g MS}$) y actividad antioxidante el día ocho (29595.62 $\mu\text{Mol TROLOX}/100 \text{ g MS}$). El ensilado tuvo olor dulce (días cero y uno) y ácido suave (días cuatro, ocho, 15 y 30). Mostró color marrón claro y consistencia sólida. Se concluye que mediante la fermentación del raquis de banano orito se lograron mejoras en los contenidos de proteína bruta, fenoles totales y actividad antioxidante, lo que hace posible la obtención de un alimento funcional que se puede utilizar para la alimentación animal.

Palabras clave: *alimentación animal, fermentación, fenoles totales, residuos de banano.*

El fruto de banano orito se produce durante todo el año en la región amazónica ecuatoriana. Luego del consumo de este fruto, se generan residuos, entre los que se encuentran la cáscara y el raquis, que no reciben un tratamiento adecuado para su uso en la alimentación animal. Diferentes investigaciones han informado en estos subproductos la presencia de proteínas, lípidos, fibra y compuestos con capacidad antioxidante, así como compuestos fitoquímicos con actividad contra radicales libres (Blasco-López y Gómez-Montaño 2014).

En estudios realizados con pulpa y cáscara de banano se informa que estos subproductos contienen varios compuestos antioxidantes, como la galocatequina, alcaloides, flavonoides, taninos, compuestos fenólicos y dopamina (Blasco-López y Gómez-Montaño 2014). En estado natural, los alcaloides y taninos inhiben la absorción de nutrientes, y para su uso eficiente se recomienda el

cooking and fermentation with lactic bacteria (LAB) are recommended. Fermentation of agricultural by-products with LAB is one of the important processes for obtaining phenolic compounds with an antioxidant effect (Lin *et al.* 2018). The objective of this study was to determine the physicochemical and organoleptic indicators of orito banana (*Musa acuminata* AA) rachis silage, treated with whey.

The study was carried out in the microbiology and bromatology laboratories of the Universidad Estatal Amazónica (UEA), main campus, located at km 2 ½, via Puyo-Tena, in Puyo city, canton and province of Pastaza. To make the silage, orito banana rachis was obtained from the "MARISCAL" market in Puyo city, and it was transported for 5 min to the UEA microbiology laboratory. The washing was immediately carried out and cut with a hammer mill, equipped with a blade and a 2-cm sieve. For lab analysis, two samples of natural rachis of 1 kg were collected. The remaining material was used for producing the silage, combining chopped rachis (67 %), wheat powder (20 %), Pecutrin (0.5 %), molasses (2 %), calcium carbonate (0.5%) and whey (10 %). As experimental units, a control (natural rachis) and 18 microsilos of 1 kg capacity were used, which were evaluated on days 0, 1, 4, 8, 15 and 30. Three microsilos were used for each day of conservation.

The pH check was made to the 18 microsilos on days 0, 1, 4, 8, 15 and 30 of being ensiled. For determining pH, an aqueous extract was used, consisting of a fraction of 25 g of silage and 250 mL of distilled water.

Crude protein (CP) was determined in the samples of natural and ensiled rachis by Kjeldahl methodology. Total phenol determination in gallic acid equivalent (GAE) was carried out by Folin-Ciocalteu method, and antioxidant activity (TROLOX) according to ABTS 2.2 azinobis (3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonic acid). All analyzes were performed by triplicate in the UEA bromatology laboratory.

Organoleptic characteristics, such as smell (sweet, mild acid and strong acid), color (light brown, yellowish brown, mahogany brown, oxidized brown and dark brown) and consistency (solid, semi-solid and liquid) were assessed in all microsilos, in different experimentation days. Analysis of variance was performed and Duncan (1955) test ($P < 0.05$) was applied. All analyzes were processed using Infostat statistical program, version 2012 for Windows.

Table 1 shows results of pH, CP, total phenols and antioxidant activity of natural and ensiled banana rachis. The pH showed the highest ($P < 0.05$) value on day zero, and partially decreased until day four. Between days eight, 15 and 30, it was stable, with no differences. The highest CP values were obtained in the ensiled rachis on days eight, 15 and 30, without significant

secado, la cocción y la fermentación con bacterias lácticas (BAL). La fermentación de subproductos agrícolas con BAL es uno de los procesos importantes para la obtención de compuestos fenólicos con efecto antioxidante (Lin *et al.* 2018). El objetivo de este estudio fue determinar los indicadores físicoquímicos y organolépticos del ensilado de raquis de banano orito (*Musa acuminata* AA), tratado con suero de leche.

El estudio se efectuó en los laboratorios de microbiología y bromatología de la Universidad Estatal Amazónica (UEA), campus principal, ubicado en el km 2 ½, vía Puyo-Tena, en la ciudad de Puyo, cantón y provincia de Pastaza. Para elaborar el ensilado, el raquis de banano orito se obtuvo en el mercado "MARISCAL" en la ciudad de Puyo, y se trasportó durante 5 min hacia el laboratorio de microbiología de la UEA. Inmediatamente se realizó el lavado y troceado con un molino de martillo, provisto de cuchilla y criba de 2 cm. Para el análisis de laboratorio respectivo, se colectaron dos muestras de raquis natural de 1 kg. Con el material restante se hizo el ensilado, combinando raquis picado (67 %), polvillo de trigo (20 %), pecutrín vitaminado (0.5 %), melaza (2 %), carbonato de calcio (0.5 %) y suero de leche (10 %). Como unidades experimentales se utilizó un control (raquis natural) y 18 microsilos de 1 kg de capacidad, que se evaluaron en los días 0, 1, 4, 8, 15 y 30. Se utilizaron tres microsilos para cada día de conservación.

La comprobación del pH se hizo a los 18 microsilos en los días 0, 1, 4, 8, 15 y 30 de ensilado. Para la determinación del pH se utilizó extracto acuoso, formado por una fracción de 25 g de ensilado y 250 mL de agua destilada.

En las muestras del raquis natural y ensilado se determinó la proteína bruta (PB) por la metodología de Kjeldahl. La determinación de fenoles totales en equivalentes de ácido gálico (EAG) se realizó por el método Folin-Ciocalteu, y la actividad antioxidante (TROLOX) según ABTS ácido 2.2 azinobis (3-etilbenzotiazolin - 6 - sulfónico). Todos los análisis se hicieron por triplicado en el laboratorio de bromatología de la UEA.

Las características organolépticas, como olor (dulce, ácido suave y ácido fuerte), color (marrón claro, marrón amarillento, marrón caoba, marrón oxidado y marrón oscuro) y consistencia (sólida, semisólida y líquida) se valoraron en todos los microsilos, en diferentes días de experimentación. Se realizó análisis de varianza y se aplicó la dócima de Duncan (1955) ($P < 0.05$). Todos los análisis se procesaron mediante el programa estadístico Infostat, versión 2012 para Windows.

En la tabla 1 se muestran los resultados de pH, PB, fenoles totales y actividad antioxidante del raquis de banano orito, natural y ensilado. El pH mostró el mayor ($P < 0.05$) valor el día cero, y disminuyó parcialmente hasta el día cuatro. Entre los días ocho, 15 y 30 fue estable, sin diferencias. Los mayores valores de PB se obtuvieron en el raquis ensilado de los días ocho, 15 y 30, sin diferencias significativas entre ellos. Estos valores fueron superiores ($P < 0.05$) a los del raquis

differences among them. These values were higher ($P < 0.05$) than those of ensiled rachis on days one, four and zero, in natural state. Regarding the content of total phenols, it presented the highest value on day 30, while the lowest was obtained for rachis in its natural state. Regarding antioxidant activity, the best value was evident on day eight of fermentation, while the lowest value corresponded to natural rachis.

ensilado de los días uno, cuatro y cero, en estado natural. Con relación al contenido de fenoles totales, el día 30 presentó el mayor valor, mientras que el menor se obtuvo para el raquis en estado natural. En lo referente a la actividad antioxidante, el mejor valor se evidenció en el día ocho de fermentación, mientras que el más bajo correspondió al raquis natural.

El pH es uno de los principales indicadores que pueden

Table 1. Performance of pH, crude protein, total phenols and antioxidant activity of banana rachis in ensiled and natural state

Variables	Fermentation						SE ±	P valor
	0	1	4	8	15	30		
pH	Control	4.91 ^a	4.71 ^b	4.15 ^c	4.06 ^d	4.07 ^d	0.20	P=0.0001
CP, %	-	11.61 ^d	15.54 ^b	15.20 ^c	16.12 ^a	16.07 ^a	0.05	P=0.0001
Total phenols, $\mu\text{Mol GAE}/100 \text{ g DM}$	108067.73g	250996.02 ^c	227091.64 ^d	207185.63 ^e	270916.33 ^b	136500 ^f	204.26	P=0.0001
Antioxidant activity, $\mu\text{Mol TROLOX}/100 \text{ g DM}$	3559.41g	21226.49 ^c	26866.68 ^b	14819.67 ^e	29595.62 ^a	5848 ^f	667.69	P=0.0001

abcdefg: Different letters in the line show differences at the level of $P < 0.05$, according to Duncan (1955)

The pH is one of the main parameters that can affect fermentation of ensiled food. In addition, it is closely related to microbial growth and phytochemical structural changes that occur during fermentation. The highest pH was obtained between days zero and one, which is due to the low acidification of the medium (Borrás-Sandoval *et al.* 2017). However, from day four of evaluation and until day 30, an ideal pH was obtained for silage conservation. This is due to the action of lactic bacteria present in the substrate. These microorganisms transform soluble carbohydrates into lactic acid, and manage to reduce the pH rapidly until stabilizing it (Aguirre *et al.* 2018).

Protein increase of the ensiled material, with respect to rachis in natural state, is due to the unicellular protein (bacteria, yeasts and filamentous fungi) developed during this process. Microbial protein is nutritionally similar to fish and soy bean protein. In studies of protein content and amino acid profile of the unicellular protein of *Kluyveromyces marxianus*, *Candida utilis* and *Sacharomyces cerevisiae*, high crude protein contents have been reported (42.19, 49 and 45 %), and levels of lysine, threonine, arginine, valine and leucine are highlighted (Gutiérrez and Gómez 2008 and Páez *et al.* 2008).

The greatest increase in the content of polyphenols in the ensiled rachis is related to LAB starter culture used in silos (Nisa *et al.* 2019). During fermentation, microorganisms synthesize enzymes (β -glucosidase, α -amylase, laccase, and some others) that can break ester bonds and release phenolic acids. In this way, it improves nutraceutical potential of food and increases the bioavailability of free phenolic acids (Acosta-Estrada *et al.* 2014).

The highest antioxidant activity was obtained in fermented rachis. LAB have the capacity of breaking ester compound bonds into free phenolic compounds. Nisa *et al.* (2019) fermented rice bran with 10 % of *L. lactis* and *L. plantarum* inocula, and obtained double antioxidant activity, regarding bran in natural state. The effect of LAB on antioxidant activity could be explained by the release of simple phenolic compounds after acid and enzymatic hydrolysis of phenolic compounds, polymerized during fermentation. In fact, enzymes function within substratum and activate free hydroxyl groups in phenolic structure. As a consequence, antioxidant activity of the substratum is increased by the presence of free phenolic content (Bhanja *et al.* 2009).

Regarding the organoleptic characteristics of silage, on days zero and one, it presented a sweet smell, and on days four, eight, 15 and 30, the smell was mild acid. During the study days, a light brown color and solid consistency were obtained. The change in smell during conservation days is due to the acidification process of the medium (Caicedo *et al.* 2019).

It is concluded that, through fermentation of orito banana rachis, improvements were achieved in crude

afectar la fermentación del alimento ensilado. Además, está estrechamente relacionado con el crecimiento microbiano y con los cambios estructurales fitoquímicos que ocurren durante la fermentación. El mayor pH se obtuvo entre los días cero y uno, lo que se debe a la poca acidificación del medio (Borrás-Sandoval *et al.* 2017). Sin embargo, a partir del día cuatro de evaluación y hasta el 30, se obtuvo un pH idóneo para la conservación del ensilado. Esto se debe a la acción de las bacterias lácticas presentes en el sustrato. Estos microorganismos transforman los carbohidratos solubles en ácido láctico, y logran reducir el pH rápidamente hasta estabilizarlo (Aguirre *et al.* 2018).

El incremento proteico del material ensilado con respecto al raquis en estado natural se debe a la proteína unicelular (bacterias, levaduras y hongos filamentosos) que se desarrolla durante este proceso. La proteína microbiana es nutricionalmente similar a la proteína de soya y pescado. En estudios del contenido proteico y perfil de aminoácidos de proteína unicelular de *Kluyveromyces marxianus*, *Candida utilis* y *Sacharomyces cerevisiae*, se han informado altos contenidos de proteína cruda (42.19, 49 y 45 %), y se destacan los tenores de lisina, treonina, arginina, valina y leucina (Gutiérrez y Gómez 2008 y Páez *et al.* 2008).

El mayor incremento en el contenido de polifenoles en el raquis ensilado se relaciona con el cultivo iniciador de BAL utilizado en los silos (Nisa *et al.* 2019). Durante la fermentación, los microorganismos sintetizan enzimas (β -glucosidasa, α -amilasa, lacasa etc.) que pueden romper los enlaces de éster y liberar los ácidos fenólicos. De esta forma, mejora el potencial nutraceutico del alimento y aumenta la biodisponibilidad de los ácidos fenólicos libres (Acosta-Estrada *et al.* 2014).

La mayor actividad antioxidante se obtuvo para el raquis fermentado. Las BAL tienen la capacidad de romper los enlaces éster en compuestos fenólicos libres. Nisa *et al.* (2019) fermentaron salvado de arroz con 10 % de inóculo de *L. lactis* y *L. plantarum*, y obtuvieron el doble de actividad antioxidante, con respecto al salvado en estado natural. El efecto de las BAL en la actividad antioxidante se podría explicar por la liberación de compuestos fenólicos simples después de la hidrólisis ácida y enzimática de compuestos fenólicos, polimerizados durante la fermentación. De hecho, las enzimas trabajan mediante el sustrato y activan los grupos hidroxilo libres en la estructura fenólica. En consecuencia, la actividad antioxidante del sustrato se incrementa por la presencia del contenido fenólico libre (Bhanja *et al.* 2009).

Con respecto a las características organolépticas del ensilado, en los días cero y uno, presentó olor dulce, y en los días cuatro, ocho, 15 y 30 el olor fue ácido suave. Durante los días de estudio, se obtuvo un color marrón claro y consistencia sólida. El cambio de olor en los días de conservación se debe al proceso de acidificación del medio (Caicedo *et al.* 2019).

Se concluye que mediante la fermentación del raquis de banana orito se lograron mejoras en los contenidos de

protein content, total phenols and antioxidant activity, which makes it possible to obtain a functional food that can be used for feeding animals.

proteína bruta, fenoles totales y actividad antioxidante, lo que hace posible la obtención de un alimento funcional que se puede utilizar para la alimentación animal.

Acknowledgements

Thanks to the technical staff of the bromatology laboratory from the Amazon State University for their support in the development of this research.

Agradecimientos

Se agradece al personal técnico del laboratorio de bromatología de la Universidad Estatal Amazónica por el apoyo para el desarrollo de esta investigación.

References

- Acosta-Estrada, B.A., Gutiérrez-Urbe, J.A. & Serna-Saldivar, S.O. 2014. Bound phenolics in foods, a review. *Food Chemistry*, 152(1): 46-52, ISSN: 0308-8146, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.093>
- Aguirre, L.A., Rodríguez, Z., Boucourt, R., Saca, V., Salazar, R. & Jiménez, M. 2018. Effect of whey on solid state fermentation of coffee (*Coffea arabica* L.) pulp for feeding ruminants. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 52(3): 1-10, ISSN: 2079-3480
- Blasco-López, G. & Gómez-Montaña, F.J. 2014. Propiedades funcionales del plátano (*Musa sp.*). *Revista Médica de la Universidad Veracruzana*, 14(2): 22-26, ISSN: 1870 3267
- Borrás-Sandoval, L., Valiño, E. & Elías, A. 2017. Evaluación del efecto de la inclusión de materiales fibrosos en la fermentación en estado sólido de residuos poscosecha de papa (*Solanum tuberosum*) inoculado con preparado microbial. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*, 18(8): 1-16, ISSN: 1695-7504
- Bhanja, T., Kumari, A. & Banerjee, R. 2009. Enrichment of phenolic and free radical scavenging property of wheat koji prepared with two filamentous fungi. *Bioresource Technology*, 100(11): 2861-2866, ISSN: 0960-8524, DOI: <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.12.055>
- Caicedo, W., Ferreira, F.N., Viáfara, D., Guaman, A., Socola, C. & Moyano, J.C. 2019. Composición química y digestibilidad fecal en cerdos del fruto de chontaduro (*Bactris gasipaes* Kunth) fermentado. *Livestock Research for Rural Development*, 31(9), Available: <<http://www.lrrd.org/lrrd31/9/orlando31140.html>>
- Duncan, D.B. 1955. "Multiple Range and Multiple F Tests". *Biometrics*, 11(1): 1-42, ISSN: 0006341X, DOI: <https://doi.org/10.2307/3001478>
- Gutiérrez, L. Gómez, A. 2008. Determinación de proteína total de *Candida utilis* y *Sacharomyces cerevisiae* en bagazo de caña. *Revista Lasallista de Investigación*, 5(1): 61-64, ISSN: 1794-4449
- Lin, X, Xia Y., Wang, G., Yang, Y., Xiong, Z., Lv, F., Zhou, W. & Ai, L. 2018. Lactic Acid Bacteria With Antioxidant Activities Alleviating Oxidized Oil Induced Hepatic Injury in Mice. *Frontiers in Microbiology*, 9: 2684, ISSN: 1664-302X, DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02684>
- Nisa, K., Rosyida, V. T., Nurhayati, S., Indrianingsih, A.W., Darsih, C. & Apriyana, W. 2019. Total phenolic contents and antioxidant activity of rice bran fermented with lactic acid bacteria. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 251: 012020, ISSN: 1755-1315, DOI: <https://doi.org/doi:10.1088/1755-1315/251/1/012020>
- Páez, G., Jiménez, E., Mármol, Z., Ferrer, J., Sulbarán, B., Ojeda, G., Araujo, K. & Rincón, M. 2008. Perfil de aminoácidos de la proteína unicelular de *Kluyveromyces marxianus* var. *Marxianus*. *Interciencia*, 33(4): 297-300, ISSN: 0378-1844

Received: March 4, 2020

Accepted: May 5, 2020