

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



APLICACIÓN DE EXTRACTO DE FERMENTACIÓN PARA ALARGAR VIDA DE  
ANAQUEL DEL NOPAL VERDURA MÍNIMAMENTE PROCESADO

**Tesis**

Que presenta ERENDIDA DEL CARMEN LOPEZ ROBLERO  
como requisito parcial para obtener el Grado de  
MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

APLICACIÓN DE EXTRACTO DE FERMENTACIÓN PARA ALARGAR VIDA DE  
ANAQUEL DEL NOPAL VERDURA MÍNIMAMENTE PROCESADO

Tesis

Elaborada por ERENDIDA DEL CARMEN LOPEZ ROBLERO como requisito parcial  
para obtener el grado de Maestro en Ciencias Horticultura con la supervisión y  
aprobación del Comité de Asesoría



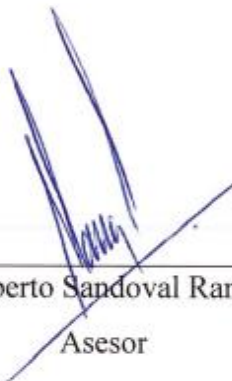
Dr. Armando Robledo Olivo

Director de Tesis



Dra. Susana González Morales

Asesor



Dr. Alberto Sandoval Rangel

Asesor



Dr. Héctor Arturo Ruíz Leza

Asesor



Dr. Antonio Flores Naveda

Subdirector de Postgrado  
UAAAN

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Alma Terra Mater por ser mi botín máspreciado de los conocimientos, brindándome las herramientas para mi formación profesional, tú has formado personas futuristas eres el mañana de nosotros y el progreso de mi vida, tus perspectivas han sido el conocimiento, has levantado el pensamiento siendo el espejo de nuestra patria te recordaré con el respeto que se merece, tu nombre me llevará adelante y tus ideas serán mi futuro.

Agradezco a CONAHCYT por la beca otorgada durante todo el periodo de maestría.

Al DR. Armando Robledo Olivo por su apoyo y confianza, por su paciencia y valiosa observación, asesoría, fueron de gran ayuda en el desarrollo de esta investigación ya que sin usted no hubiera logrado culminar la investigación.

A la DRA. Susana González Morales por sus enseñanzas y por brindarme el conocimiento en clases, su comprensión y su paciencia son cualidades muy bonitas que le hacen ser una gran persona.

A todos los que formaron parte de mi comité de asesores Dr. Armando Robledo Olivo, Dra. Susana Gonzales Morales, Dr. Alberto Sandoval Rangel, Dr. Héctor Ruiz Leza y todos los catedráticos que contribuyeron en mi formación académica.

A la DRA. Ana Verónica Charles Rodríguez por su gran labor y apoyo, por la experiencia compartida principalmente en el área de laboratorio.

A la DRA. Dolores Gabriela Martínez Vásquez por sus consejos y apoyo en clases, dándome conocimientos esenciales.

A la DRA. Tomasa Quiterio Gutiérrez por su apoyo incondicional sus palabras sabias y por su disposición en ayudarme cada vez que necesite

Ing. Juan Antonio Ruiz Enríquez por su apoyo y su gran labor que realiza, ayudando a cada estudiante y brindando su conocimiento.

Ing. Ernesto Torres García por sus consejos y por compartir sus conocimientos.

A todas las personas que me brindaron su apoyo incondicional, a mis compañeros de la Carrera, a mis amigas (os) Isaac Guajardo Paz, Karen Villafan Barranco, laboratoristas, Carlos Alberto Arévalo San miguel.

## **DEDICATORIAS**

### **A DIOS**

Por ser mí más grande amigo por estar siempre a mi lado guiando mis pasos cuidando de mí y de todos mis seres que más amo, siendo mi maestro que, con tu ayuda, paciencia y tú gran amor me acompañaste desde mis primeros pasos como estudiante brindándome los conocimientos necesarios para poder llegar a la meta.

A memoria de mi madre Silvia Roblero Gonzales la mamá más linda y hermosa que me dio la vida, A mi abuela Laura Pérez Bravo, gracias por tu paciencia y amor que nos diste a mis hermanas y a mí desde que éramos pequeñas, gracias por cobijarnos en tus brazos, A mi suegra Elvira Santos Tóala por la confianza y su amistad que me dio durante el tiempo que nos conocimos, siempre las recordaré agradecida con mi Dios por haberlas conocido.

### **A MI PADRE**

Ranulfo López Pérez

Eres mi héroe la alegría que Dios me ha dado, tú guiaste mis pasos siendo el pilar de mi vida, dándome la oportunidad de formarme profesionalmente, gracias por tu apoyo, comprensión, consejos, amor, paciencia que tú nos das a mis hermanas (os) y a mí, no tengo como agradecerte todo lo que tú has hecho por mí, admiro tu fuerza tu lucha día con día por darme lo mejor sin esperar nada a cambio te amo papá.

### **A MI AMADO ESPOSO**

Nigenda Santos

Que nuestro amor siga creciendo cada día más, que Dios Padre nos siga guiando en cada paso que demos juntos, eres el mejor compañero de vida, el mejor amigo y padre, tu amor y paciencia es una de las cualidades más hermosas. Atreves del tiempo he descubierto que el amor es sufrido, es benigno, el amor no tiene envidia, el amor no es jactancioso, no se envanece, no hace nada indebido, el amor nunca deja de ser.

## **A MIS HIJOS**

Jesuri Yamileth Nigenda Lopez

Santiago Alexander Nigenda Lopez

Ustedes son el regalo máspreciado que mi Dios me dio, gracias a ustedes hoy tengo la dicha de ser madre, son parte importante en mi vida, cada día aprendo más de ustedes, son valientes admiro su fuerza y su forma de pensar, cada sonrisa, sus miradas me hacen feliz, ustedes me impulsan para seguir adelante los amo. El consejo es la lámpara y la enseñanza es luz y es camino de vida la instrucción que corrige. Los hijos son una herencia del señor, los frutos del vientre son una recompensa.

## **A MIS HERMANAS Y HERMANO**

Yesenia Careli, Miriam Yaquelin, Susana Clarisa, Ana Isela, Yeni Viridiana, Henri Abelino, ustedes son parte importante de mi vida, gracias por todo su apoyo que me han brindado, agradezco por sus palabras de ánimo por estar siempre cuando los necesito, los quiero mucho nunca lo duden.

## ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS .....	iii
DEDICATORIAS .....	v
ÍNDICE GENERAL.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
ÍNDICE TABLAS.....	xi
Resumen.....	xii
Abstract .....	xiv
INTRODUCCIÓN .....	1
Objetivos .....	3
Objetivo general .....	3
Objetivos específicos.....	3
Hipótesis.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Origen del cultivo de nopal ( <i>Opuntia</i> spp.).....	4
Importancia a nivel mundial.....	4
Importancia nacional .....	4
Ácido kójico .....	8
Aplicaciones del ácido kójico.....	9
JUSTIFICACIÓN .....	11
MATERIALES Y MÉTODOS .....	12
Ubicación.....	12
Obtención de la materia prima para fermentación .....	12
Microorganismo .....	12
Fermentación líquida para la producción de ácido kójico.....	13
Determinaciones analíticas de la fermentación .....	14
Parámetros asociados al proceso de fermentación .....	15
Determinaciones analíticas en el nopal ( <i>Opuntia</i> spp.).....	15
Análisis estadístico .....	17
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	18
CONCLUSIÓN.....	36

LITERATURA CITADA.....	37
------------------------	----



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Cantidad de desechos de nopal que se generan en algunas tiendas de autoservicio de la Ciudad de Saltillo, Coahuila, México.....	19
<b>Figura 2.</b> Cantidad de desechos de melón que se generan en algunas tiendas de autoservicio de la Ciudad de Saltillo, Coahuila, México.....	19
<b>Figura 3.</b> Tratamientos evaluados para la inducción de producción de ácido kójico en medio líquido por <i>Aspergillus oryzae</i> , utilizando desechos de melón en polvo como fuente de carbono. Se muestran las medias $\pm$ y las barras de error muestran la desviación estándar. Las letras minúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (Tukey $p=0.05$ ).....	20
<b>Figura 4.</b> Interacción de los tratamientos evaluados para la inducción de producción de ácido kójico en medio líquido por <i>Aspergillus oryzae</i> , utilizando desechos de melón en polvo como fuente de carbono. ....	21
<b>Figura 5.</b> Cinética de formación de biomasa en medio líquido por <i>Aspergillus oryzae</i> , a las 120 h utilizando 2.5 g/L de extracto de levadura como fuente de nitrógeno, y 2.5 g/L de melón como única fuente de carbono. Se muestran las medias $\pm$ su desviación estándar. La línea punteada representa los valores de la biomasa modelada con la ecuación logística de Verhulst. ....	24
<b>Figura 6.</b> Cinética de producción de ácido kójico, consumo de azúcares totales y formación de biomasa en medio líquido por <i>Aspergillus oryzae</i> , a las 120 h utilizando 2.5 g/L de extracto de levadura como fuente de nitrógeno y 2.5 g/L de melón como única fuente de carbono. Se muestran las medias y las barras de error muestran la desviación estándar. ....	25
<b>Figura 7.</b> Datos del color en nopal en nopal verdura sin espinas tratados con ácido kójico, espacio de color (CIELab) .....	29
<b>Figura 8.</b> Muestras de nopal tratados con ácido kójico, evaluando las muestras a 144 h, día 6, a una temperatura de 28°C. Tiempo de inmersión T1(0.5 min), T2 (1.0 min), T3 (2.0 min), T4 (4.0 min), T5 (8.0 min), T6 (16 min).....	30
<b>Figura 9.</b> Contenido de proteína total en muestras de nopal tratadas con ácido kójico. Tiempo de inmersión en valores de T1 (0.5 min), T2 (1.0 min), T3 (2.0 min), T4 (4.0 min), T5 (8.0 min), T6 (16 min), evaluando las muestras a las 48, 96 y 144 horas. Medias con una letra común no son significativamente diferentes (Tukey $p<0.05$ ).....	32
<b>Figura 10.</b> Actividad de la enzima polifenol oxidasa (PPO). Tiempo de inmersión en valores de T1 (0.5 min), T2 (1.0 min), T3 (2.0 min), T4 (4.0 min), T5 (8.0 min), T6 (16 min) tiempo de almacenamiento a una temperatura de 28°C, evaluando las muestras a las	

48, 96 y 144 horas. Medias con una letra común no son significativamente diferentes Tukey  $p < 0.05$  .....33

**Figura 11.** Contenido de fenoles totales en nopal variedad Atlixco. Tratadas con ácido kójico. Tiempo de inmersión en valores de T1 (0.5 min), T2 (1.0 min), T3 (2.0 min), T4 (4.0 min), T5 (8.0 min), T6 (16 min), evaluando las muestras a las 48, 96 y 144 horas. Medias con una letra común no son significativamente diferentes Tukey  $p < 0.05$ . .....35

## ÍNDICE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Composición nutrimental del nopal verdura fresco en 100 g de peso neto (Ulloa Leitón, 2020). .....	6
<b>Tabla 2.</b> Taxonómica del nopal verdura (Perez & Lourdes, 2018). .....	6
<b>Tabla 3.</b> Tratamientos de la cinética de fermentación en diferentes condiciones según el diseño experimental realizado.....	13
<b>Tabla 4.</b> Análisis de varianza para los factores evaluados en el diseño factorial fraccionado que afectan la producción de ácido kójico ( $p<0.05$ ). .....	21

## **Resumen**

APLICACIÓN DE EXTRACTO DE FERMENTACIÓN PARA ALARGAR VIDA DE  
ANAQUEL DEL NOPAL VERDURA MÍNIMAMENTE PROCESADO

POR

ERENDIDA DEL CARMEN LOPEZ ROBLERO  
MAESTRIA EN CIENCIAS HORTICULTURA

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DR. ARMANDO ROBLEDO OLIVO  
(ASESOR)

Saltillo, Coahuila

Agosto 2024

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación de un extracto de fermentación rico en ácido kójico (AK) sobre el oscurecimiento enzimático en nopal sin espinas, y su efecto en la vida de anaquel, mediante un proceso de fermentación en medio líquido con el hongo *Aspergillus oryzae* utilizando como fuente de carbono desechos de melón, se produjo un fermento rico en AK. Dicho fermento se aplicó a pencas de nopal verdura con la finalidad de evitar el pardeamiento causado por la oxidación. La producción de nopal verdura posee gran importancia en México por sus propiedades nutricionales. Sin embargo, para vender el producto deben retirarse sus espinas, lo cual propicia manchas oscuras causadas por la oxidación en donde participa la enzima polifenol oxidasa (PPO). El mejor tratamiento para producir AK fue con las condiciones de pH 5.5, 36°C, 2.5 g de melón, 2.5 g de fuente de nitrógeno y 100 rpm para obtener un valor máximo a las 72 horas de 1.6 g/L de KA. Se presentó una disminución de azúcares debido a la fuente de carbono, ya que la glucosa es de fácil asimilación se consumió en las primeras 48 horas, la biomasa aumentó en las primeras horas al estar en fase de crecimiento, en la fase estacionaria empezó la producción del metabolito secundario AK con un aumento 1.33 g/L a un tiempo de 72 h, y 1.54 g/L a 120 h. En los datos de color en nopal, el tratamiento 1 muestra valores  $L^*54.53$ ,  $a^*-16.75$  y  $b^*26.87$ . Los datos en el espacio de color  $L^* a^* b^*$  dando un color verde claro, en los datos evaluados para la inhibición de enzima polifenol oxidasa el tratamiento el T1 fue el mejor retardo el pardeamiento enzimático aun tiempo de 144 horas. En conclusión, los factores de temperatura y pH afectan y maximizan la síntesis de KA en la cepa *Aspergillus oryzae*, a un tiempo de 0.5 minutos de inmersión en KA, el T1 retardó por 6 días la presencia de manchas oscuras en nopal, y evito la presencia de hongos.

**Palabras clave:** *Aspergillus oryzae*, Color, fermentación, polifenol oxidasa, *Opuntia*

**Abstract**

APPLICATION OF FERMENTATION EXTRACT TO EXTEND SHELF LIFE OF  
MINIMALLY PROCESSED NOPAL VEGETABLES

By

ERENDIDA DEL CARMEN LOPEZ ROBLERO  
MÁSTER IN SCIENCE IN HORTICULTURE

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DR. ARMANDO ROBLEDO OLIVO  
ADVISER

Saltillo, Coahuila

August, 2024

The objective of this work was to evaluate the effect of the application of a fermentation extract rich in kojic acid (KA) on enzymatic browning in spineless cactus, and its effect on shelf life, by means of a fermentation process in liquid medium with the fungus *Aspergillus oryzae* using melon laste as a carbon source, a ferment rich in KA was produced. This ferment was applied to prickly pear cactus stalks to prevent browning caused by oxidation. The production of nopal verdura is of great importance in Mexico because of its nutritional properties. However, in order to sell the product, the spines must be removed, which causes dark spots caused by oxidation in which the enzyme polyphenol oxidase (PPO) participates. The best treatment to produce KA was with the conditions of pH 5.5, 36°C, 2.5 g of melon, 2.5 g of nitrogen source and 100 rpm to obtain a maximum value at 72 hours of 1.6 g/L of KA. There was a decrease in sugars due to the carbon source, since glucose is easily assimilated and was consumed in the first 48 hours, the biomass increased in the first hours as it was in the growth phase, in the stationary phase the production of the secondary metabolite KA began with an increase of 1.33 g/L at 72 h and 1.54 g/L at 120 h. In the cactus color data, treatment 1 shows values  $L^*54.53$ ,  $a^*16.75$  and  $b^*26.87$ . The data in the color space  $L^* a^* b^*$  gives a light green color, in the data evaluated for the inhibition of polyphenol oxidase enzyme, the T1 treatment was the best at retarding the enzymatic browning even at 144 hours. In conclusion, temperature and pH factors affect and maximize KA synthesis in the *Aspergillus oryzae* strain, at a time of 0.5 minutes of immersion in KA, T1 delayed for 6 days the presence of dark spots in nopal, and prevented the presence of fungi.

**Keywords:** *Aspergillus oryzae*, Color, fermentation. polyphenol oxidase, *Opuntia*,

## INTRODUCCIÓN

En México en el año 2021 la producción de nopal alcanzó las 892 mil toneladas métricas, generando ganancias por exportación alrededor de los 20.9 millones de dólares americanos (Navarro, 2023). La demanda en países extranjeros como Estados Unidos, Canadá, China entre otros, ha requerido de tecnología de conservación a largo plazo para poder llevar el producto a estos países (Sáenz y Berger, 2006).

Sin embargo, para comercializar este producto en fresco es necesario retirar las espinas del cladodio, con un pelador o un cuchillo, y de manera manual. El realizar los cortes en el cladodio para retirar las espinas, origina la presencia de manchas oscuras que provocan la pérdida del color verde brillante que lo caracteriza. Las manchas oscuras u oscurecimiento enzimático se presentan en la superficie de cortes y heridas, esta reacción se produce por la enzima polifenol oxidasa (PPO) (Denoya *et al.*, 2012).

La PPO en presencia de oxígeno actúa sobre los sustratos fenólicos, formando las quinonas, compuestos altamente reactivos que polimerizan, formando melanosis de coloración parda, esto afecta la calidad visual del producto, limita la vida útil y la preferencia del consumidor, afectando principalmente la economía de los productores. Por lo anterior, no es posible mantener por mucho tiempo el nopal desespinado al aire libre, debido a que se reduce el tiempo de exhibición para su venta, se disminuyen las propiedades organolépticas, y por lo tanto la calidad del producto final (Apodaca-Pérez *et al.*, 2016).

El ácido kójico (AK) es una molécula que se ha utilizado desde hace tiempo en la industria cosmética debido a su efecto anti manchas (Uchino *et al.*, 1988). También se ha utilizado para evitar la formación del pardeamiento durante el almacenamiento y procesamiento de fideos crudos, esto se debe al efecto inhibidor del ácido kójico sobre la polifenol oxidasa, lo anterior asociado a la inhibición de la melanosis al interferir en la captación de oxígeno necesaria para el pardeamiento enzimático (Saruno *et al.*, 1979).

El AK es producido por especies de *Aspergillus* spp., a través del metabolismo de la glucosa en un proceso fermentativo (García *et al.* 2020). El uso de glucosa pura como única fuente de carbono durante la fermentación, hace que se eleven los costos de producción de metabolitos microbianos, por lo que, para que el proceso sea redituable y



sostenible se requieren fuentes de carbono de bajo costo. Estas fuentes de carbono de bajo costo las podemos encontrar en los residuos agroindustriales, el melón, presenta valores de carbohidratos entre el 8 y 13%, siendo el 97% de éstos carbohidratos azúcares solubles, y de los cuales el 50% es sacarosa (Bouzo *et al.*, 2015).

Lo anterior vuelve a los desechos de melón una excelente fuente de glucosa para la producción de otros compuestos de valor agregado mediante fermentación. Trabajos previos en postcosecha, mencionan que la aplicación de AK antes del almacenamiento retrasa el pardeamiento del pericarpio, y mantiene la actividad antioxidante de la fruta de litchi (Shah *et al.*, 2017). Aplicaciones en tratamiento combinado de los floretes de brócoli con AK y cloruro de calcio, mantiene la calidad postcosecha e inhibe la producción de mal olor (Yan *et al.*, 2020). Además, se ha utilizado el AK para inducir resistencia contra *Colletotrichum brevisporum* y mejorar las propiedades antioxidantes de la papaya en postcosecha (Wang *et al.*, 2023).

Respecto al comercio del nopal, se han aplicado técnicas de conservación en nopal con espina y despinado en postcosecha, encontrando que los nopales con espina envasados en bolsas de polietileno y almacenados a 5°C, prolongaron su vida de anaquel hasta por 3 semanas (Cantwell *et al.*, 1992). Otro estudio sobre la conservación del nopal verdura ‘Milpa Alta’ (*Opuntia ficus-indica* Mill.) desespinado, en envases con atmósfera modificada, mostraron una conservación de la calidad hasta por 20 días (Osorio-Córdoba *et al.*, 2011). Sin embargo, los estudios sobre la conservación de nopal sin espinas son limitados. Una posible alternativa para reducir el oscurecimiento del producto nopal verdura desespinado, sería la aplicación del AK, dado que este compuesto actúa en la inhibición de la enzima PPO, previniendo el pardeamiento o melanosis indeseable (Chen *et al.*, 1991) .

## **Objetivos**

### **Objetivo general**

Evaluar el efecto del extracto de fermentación rico en ácido kójico sobre el oscurecimiento enzimático en nopal verdura sin espinas y su efecto en la vida de anaquel.

### **Objetivos específicos**

1. Producir un extracto de fermentación rico en AK con el uso de residuos de melón como fuente de carbono.
2. Aplicar el extracto de fermentación rico en AK en cladodios de nopal para evitar el pardeamiento por oxidación.
3. Evaluar vida de anaquel de cladodios de nopal tratados con el fermento rico en AK.

### **Hipótesis**

La aplicación de un extracto fermentado rico en ácido kójico inhibirá la oxidación enzimática en nopales pelados, retardando el pardeamiento.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### **Origen del cultivo de nopal (*Opuntia* spp.)**

Esta cactácea del género *Opuntia* y de la cual se conocen más de 300 especies, es originaria de Mesoamérica, sin embargo, hoy en día es conocida en todo el mundo, principalmente en lugares o áreas que tienen poca disponibilidad de agua. *Opuntia ficus indica* posiblemente fue domesticada hace 9,000 años en la parte central de México (Griffith, 2004).

Mesoamérica es uno de los centros de domesticación de plantas más importantes del mundo. Varias especies de *Opuntia*, así como cactus columnares, se encontraban entre los recursos vegetales más importantes domesticados durante la Mesoamérica prehistórica, sin embargo, este tipo de cactus nopal de *Opuntia* spp. son originarios de regiones áridas o semiáridas de México y fueron introducidos al norte de África entre el siglo XVI y XIX (Casas y Barbera, 2002).

### **Importancia a nivel mundial**

El nopal verdura posee gran importancia a nivel mundial, no solo por sus frutos, sino también por sus cladodios, los cuales son usados maduros como forraje o para consumo humano cuando son tiernos. Por otra parte, se ha incrementado la demanda en países extranjeros debido a sus propiedades nutricionales, contenido en fibra dietética, fósforo, calcio, bajo contenido de lípidos, hidratos de carbono, proteínas y alto contenido de zinc (Rodríguez, 2009). Por otra parte, el nopal posee propiedades medicinales, ayuda en el control de la diabetes, funciona como antioxidante, antiviral, anticancerígeno y anticolesterolémico.

### **Importancia nacional**

México cuenta con una amplia diversidad en nopales, tanto silvestres como cultivados, sobre todo cabe mencionar que tiene una extensa variedad de nopales en el mercado. Por otro lado, las variedades más consumidas son Criolla tipo italiana, Criolla, Tlaconopal, Copena F1, y como variedades de excelente calidad tenemos Atlixco, Copena F1 y Milpa Alta (Muciño Castillo, 2014).

Dentro de *Opuntia ficus-indica* se encuentra la variedad de nopal verdura Milpa Alta siendo una de las más importantes en México por los volúmenes producidos y consumidos. México cuenta con una distribución geográfica en zonas áridas y semiáridas, debido a que el nopal se adapta a climas extremos el cual permite resistir las sequías. El nopal verdura tiene gran importancia al estar presente en la mesa del pueblo mexicano, aumentado cada vez más su presencia en platillos gourmet (Muciño Castillo, 2014).

Los estados productores del cultivo de nopal verdura a nivel nacional son los siguientes: Aguascalientes, Baja California, Baja California Sur, Coahuila, Colima, Durango, Guanajuato, Guerrero, Chihuahua, Ciudad de México, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán. Teniendo un total de superficie sembrada de 12, 490.87 hectáreas, con un volumen de producción de 872, 334.23 ton, con un valor de producción en miles de pesos de 2, 981, 136.16 el cual representa una ganancia, y sobre todo, una fuente de ingreso para muchos productores de este cultivo (SIAP, 2023).

El nopal es un recurso que cuenta con un potencial agrotecnológico, debido a su utilización como cultivo alimenticio, como base para productos derivados en la industria alimentaria (humana y animal), en la medicina, en la industria agropecuaria y cosmética entre otros (Anaya-Pérez & Bautista-Zane, 2008).

**Tabla 1.** Composición nutrimental del nopal verdura fresco en 100 g de peso neto (Ulloa Leitón, 2020).

CONCEPTO	CONTENIDO
Porción comestible (%)	78.00
Energía (Kcal)	27.00
Proteína (g)	1.70
Grasas (g)	0.30
Carbohidratos (g)	5.60
Calcio (mg)	93.00
Hierro (mg)	1.60
Fibra (mg)	18.2
Tiamina (mg)	0.03
Riboflavina (mg)	0.06
Niacina (mg)	0.03
Ascórbico (mg)	8.00
Retinol (mcg/eq)	41.00

**Tabla 2.** Taxonómica del nopal verdura (Perez & Lourdes, 2018).

Reino	Vegetal
Sub Reino	<i>Embryophita</i>
División	<i>Angiospermae</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase	<i>Dialipetalas</i>
Orden	<i>Opuntiales</i>
Familia	<i>Cactaceae</i>
Subfamilia	<i>Opuntioideae</i>
Tribu	<i>Opuntiae</i>
Género	<i>Opuntia</i>

La calidad y la inocuidad de los productos es importante principalmente en hortofrutícolas, considerándose como la clave del éxito para su comercialización en los mercados nacionales e internacionales, dentro de ello se encuentran dos normas que se aplican en México normas de calidad oficiales, la mexicana **NMX-FF-068-SCFI-2006** Esta Norma Mexicana establece las condiciones y características que debe reunir el nopal verdura de los géneros *Opuntia* spp. y *Nopalea* spp. destinados para el consumo humano que se comercializan en el territorio nacional (Codex Alimentarios, 2006). La primera incluye la clasificación del nopal por grado de calidad (México extra, México 1, México 2), tamaño (A: 25.1 o más, B: 18.1 a 25.0, C: 11.1 a 18.0, y Cambray: 7.0 a 11.0 cm) y variedad; sobre todo deben ser frescos, limpios, libres de cualquier pudrición, enteros y bien formados, con coloración que lo caracteriza al nopal, el sabor, olor característico de la especie y variedad, con consistencia firme y estar exentos de humedad exterior anormal, la segunda norma es la internacional indica que los nopales deben estar exentos de espinas, manchas, daños causados por plagas y temperaturas bajas, olor y sabor extraños, y deben estar suficientemente desarrollados, con grado de madurez satisfactorio según la naturaleza del producto (Maki-Díaz *et al.*, 2015).

En nopal verdura la apariencia es uno de atributos más utilizados por los consumidores al momento de adquirir el producto, principalmente por el color, ya que el nopal se caracteriza por tener un color verde brillante. La presencia de manchas oscuras resultan de las reacciones de pardeamiento enzimático, siendo uno de los principales problemas que afecta la calidad y limita la vida útil de frutas y hortalizas mínimamente procesadas (Reyes-Terrazas *et al.*, 2023).

En la actualidad el pardeamiento enzimático es causado por la enzima polifenol oxidasa (PPO) se considerada uno de los principales problemas que afecta a los productores de nopal verdura mínimamente procesado, esta enzima PPO actúa donde el tejido celular es dañado, ya sea por la propia manipulación o por el corte de la fruta, se pierde la compartimentalización, se pone en contacto con la enzima polifenol oxidasa, actuando sobre los difenoles con el oxígeno como receptor, esto forma quinonas esta su vez desencadenan las reacciones de pardeamiento (Pizzocaro *et al.*, 2007).

En la actualidad debido al problema antes mencionado que se presenta en nopal verdura se han utilizado métodos de conservación, una de las técnicas realizadas es el envasado

en bolsas de polietileno y almacenados a 5°C, prolongaron su vida de anaquel hasta por 3 semanas en nopal con espina y despeinado en poscosecha, (*Cantwell et al.*, 1992). Otro estudio sobre la conservación del nopal verdura ‘Milpa Alta’ (*Opuntia ficus-indica* Mill.) desespinado, en envases con atmósfera modificada, mostraron una conservación de la calidad hasta por 20 días (Osorio-Córdoba *et al.*, 2011). Otro trabajo realizado por (Quevedo-Preciado *et al.*, 2005) donde aplicaron ácido ascórbico en nopal sin espinas donde observaron y llegando a concluir que es factible extender la vida de anaquel de nopal verdura mínimamente procesado a 11 días a 10°C y 20 días a 5°C. Sin embargo, los estudios sobre la conservación de nopal sin espinas son limitados. Una posible alternativa para reducir el oscurecimiento del producto nopal verdura desespinado, sería la aplicación del AK, dado que este compuesto actúa en la inhibición de la enzima PPO, previniendo el pardeamiento o melanosis indeseable (Chen *et al.*, 1991)

### **Ácido kójico**

El nombre 'ácido kójico' (AK) que originalmente se conocía como ácido Koji se derivó de "Koji", el hongo iniciador o inóculo utilizado en las fermentaciones de alimentos orientales durante muchos siglos, la estructura química de AK se determinó como 5-hidroxi-2-hidroximetil-  $\gamma$  -pirona, (Yabuta, 1924). El ácido kójico cristaliza en forma de incolora y prismática agujas, características del ácido kójico es soluble en sustancias polares como el agua, etanol, acetato de etilo, presenta múltiples funciones ,tiene débiles propiedades ácidas es un ácido orgánico conocido como un metabolito secundario producido por diferentes hongos filamentosos, principalmente por los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* mediante fermentación líquida y sólida, comercialmente es producido por la fermentación aeróbica por la especie de *Aspergillus* (García *et al.*, 2020).

Este ácido puede producirse a partir de diversas fuentes de carbohidratos y nitrógeno en condiciones aeróbicas, y es producido por una gama limitada de microorganismos, incluidos *A. oryzae*, *A. flavus*, *A. tamari* y varias otras especies durante la fase estacionaria de crecimiento. Sin embargo, en la producción de AK, especialmente por *Aspergillus spp.* es indispensable contar con fuentes baratas de carbono y nitrógeno mediante el uso de desechos agrícolas (El-Kady *et al.*, 2014). En los procesos agroindustriales, los microorganismos que no son patógenos y que generan moléculas son generalmente

reconocidos como seguros (GRAS). *Aspergillus oryzae* es un género de hongos ascomicetos de la familia *Aspergillaceae*, que contiene un gran número de especies y está ampliamente distribuido en ambientes naturales, por otra parte es un microorganismo importante en la industria biológica y alimentaria; por otra parte, integra el mecanismo subyacente a la regulación de su metabolismo secundario donde garantiza su utilización segura (Quiterio-Gutiérrez *et al.*, 2023). Característica *A. oryzae*, es un hongo filamentoso muestra un color blanquecino, luego pasa a verde amarillento en medio de cultivo, las esporas asexuales (conidios) son fáciles de distinguir y se liberan en el aire, temperatura de crecimiento óptima es de 32-36°C (García *et al.*, 2020).

### **Aplicaciones del ácido kójico**

La industria cosmética ha tenido un aumento significativo en el uso del ácido kójico como reemplazo de la hidroquinona, molécula que blanquea y posiblemente daña la piel en los productos cosméticos. Además, el ácido kójico y sus complejos de manganeso y zinc pueden usarse potencialmente como agentes radio protectores, particularmente contra los rayos (Ammar *et al.*, 2017). Por otra parte, el ácido kójico se está convirtiendo en una molécula inicial importante en la investigación de la química medicinal, en el cual numerosos derivados del AK han demostrado tener propiedades anticancerígenas, antiinflamatorias, insecticidas, antifúngicas, antibacterianas y antivirales. Además, algunos usos del AK en la industria alimentaria son como conservantes y aditivos alimentarios para prevenir la decoloración enzimática de verduras, cangrejos y camarones (R. Yu *et al.*, 2021).

Actualmente se han realizado trabajos en poscosecha, en donde mencionan que la aplicación del AK antes del almacenamiento retrasa el pardeamiento del pericarpio, y mantiene la actividad antioxidante de la fruta de litchi (Shah *et al.*, 2017). Aplicaciones en tratamiento combinado de los floretes de brócoli con ácido kójico y cloruro de calcio, mantiene la calidad postcosecha e inhibe la producción del mal olor (Yan *et al.*, 2020). Además, se ha utilizado el AK para inducir resistencia contra *Colletotrichum brevisporum* y mejorar las propiedades antioxidantes de la papaya en postcosecha (Wang *et al.*, 2023). Por otra parte la producción de frutas y hortalizas mínimamente procesadas (FyHMP) ha crecido notoriamente, sin embargo el pardeamiento enzimático se presentan en alguna de



ellas causando daños severos y afectando la calidad visual, el ácido kójico tiene la de función de inhibir la degradación de clorofila, reduce el pardeamiento capturando o quelando el cobre del sitio activo de la PPO actúa como agente quelante de minerales como  $\text{Fe}^{+3}$ ,  $\text{Al}^{+3}$ ,  $\text{Cu}^{+2}$  y  $\text{Zn}^{+2}$ , (Ammar et al., 2017).

## JUSTIFICACIÓN

Debido a la importancia internacional que ha ganado el nopal verdura, este proyecto busca implementar un proceso para mejorar la calidad de exportación y alargar la vida de anaquel del nopal verdura mínimamente procesado, trabajando con la agricultura sustentable dando un valor agregado a los desperdicios del melón.

Sin embargo, para poder satisfacer la creciente demanda del mercado, es necesario optimizar la producción de AK mediante la búsqueda de alternativas que resulten más económicas y sean amigables con el medio ambiente.

Por otra parte, la Organización de las Naciones Unidas (ONU) proponen Objetivos de desarrollo sostenible donde cada uno se interrelacionan entre sí e incorporan los desafíos globales a los que nos enfrentamos día a día dentro la agenda 2030 de la ONU. Los objetivos que se aplican en el presente trabajo de investigación se mencionan a continuación:

Objetivo 9. Pretende construir infraestructuras resilientes, promover la industrialización sostenible y fomentar la innovación.

Objetivo 12. Pretende garantizar modalidades de consumo y producción sostenibles, algo fundamental para sostener los medios de subsistencia de las generaciones actuales y futuras.

Con lo anterior, se busca reducir los residuos generados y fomentar prácticas de economía circular. El desperdicio de alimentos es otro indicio del consumo excesivo, pese a que una gran parte de la población mundial pasa hambre, cada año se desperdicia la cantidad de 931 millones de toneladas de alimentos (ONU, 2024).

Objetivo 13. Acción por el clima.

Fomentar acciones para ayudar a mitigar el cambio climático, ya que la actividad humana realizada a diario afecta la vida en la tierra de manera negativa en los ecosistemas y sus efectos serán aún peores, el cual provocará migraciones masivas que derivarán en inestabilidad (Miluska, 2024).

## MATERIALES Y MÉTODOS

La fase experimental se dividió en dos etapas, donde en la primera etapa se realizó la producción de ácido kójico mediante fermentación líquida, utilizando residuos de melón como fuente de carbono. En la segunda etapa, el extracto de fermentación obtenido se aplicó a cladodios de nopal pelados, los cuales fueron evaluados principalmente por la actividad enzimática relacionada con el pardeamiento y su vida útil.

### Ubicación

El presente estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Fermentaciones y Biomoléculas, del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, dentro de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en la ciudad de Saltillo Coahuila México.

### Obtención de la materia prima para fermentación

La materia prima utilizada fueron melones cantalupos (*Cucumis melo* var. *reticulatus*) considerados residuos, los cuales fueron adquiridos en tiendas de autoservicio locales. Una vez obtenido el material, se lavaron y cortaron (incluida la piel) en trozos pequeños. El material cortado se llevó en una bandeja de aluminio al horno de secado (Biobase Biodustry, modelo BOV-T70C) y se colocó a una temperatura de 80°C durante 72 h. Transcurrido el tiempo, las muestras fueron retiradas y molidas en una licuadora comercial, después se tamizó para eliminar grumos que pudiera presentarse, el polvo obtenido fue considerado como materia prima para el proceso de fermentación.

### Microorganismo

Se utilizó la cepa *Aspergillus oryzae* (ATCC 10124) propiedad del Laboratorio de Fermentaciones y Biomoléculas. La cepa se conservó a -20°C en un medio crioconcentrador que contenía leche descremada en polvo (5% p/v) y glicerol (10% p/v). La reactivación del hongo se realizó en placas de Petri que contenían agar papa dextrosa (PDA, Bioxon México), las cuales se dejaron en incubación durante 7 días a 30°C, con la tapa hacia abajo para evitar condensación (como prevención de contaminación). En la

preparación del inóculo se colectaron las esporas utilizando una solución esterilizada de Tween-80 (Hycel, México) al 0.1%.

### Fermentación líquida para la producción de ácido kójico

Se realizó un diseño factorial fraccionado  $2^5$ , donde se evaluaron el pH, la temperatura, cantidad de melón, cantidad de extracto de levadura y RPM en 2 niveles. La cinética de fermentación consistió en el establecimiento de ocho cinéticas diferentes con los parámetros como se muestra en la Tabla 3. Se realizó un proceso de fermentación en líquido, empleando la cepa *Aspergillus oryzae*. El medio líquido consistió en extracto de levadura como fuente de nitrógeno, melón como fuente de carbono, en las cantidades mostradas en la Tabla 3. El medio fue complementado con 1 g/L de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y 0.5 g/L de  $\text{MgSO}_4$  para todos los tratamientos.

**Tabla 3.** Tratamientos de la cinética de fermentación en diferentes condiciones según el diseño experimental realizado.

Tratamientos	pH	Temperatura (°C)	Fuente de carbono (melón) (g/L)	Fuente de nitrógeno (levadura) (g/L)	RP M
1	3.5	28	5	2.5	100
2	5.5	28	2.5	0	100
3	5.5	36	2.5	2.5	100
4	3.5	36	5	0	100
5	3.5	28	2.5	2.5	200
6	5.5	28	5	0	200
7	5.5	36	5	2.5	200
8	3.5	36	2.5	0	200

La fermentación se realizó considerando como reactores los matraces Erlenmeyer de 250 mL, con un volumen de 50 mL de medio. Se adicionó 1% de la solución de esporas de *Aspergillus oryzae* por mL de medio. Cada tratamiento constó de un total de 18 réplicas (matraces con muestra), los cuales se incubaron de acuerdo con su temperatura y agitación correspondiente (Incubadora Orbital INNOVA 44). El período de evaluación fue de un

total de 120 h, tomando muestras cada 24 h para las determinaciones analíticas. Cada reactor (matraz) se tomó como muestra correspondiente, y se consideraron intervalos de 24 h como el tiempo experimental, el cual se realizó por triplicado para un total de 144 reactores evaluados.

### **Determinaciones analíticas de la fermentación**

Para la cuantificación de la biomasa de cada cinética, se tomaron en su respectivo tiempo de fermentación los matraces con el medio líquido y fueron filtrados (Whatman N°42) utilizando un matraz Kitasato y una bomba de vacío. El micelio obtenido fue secado en horno (Biobase Biodustry, modelo BOV-T70C) a temperatura de 80°C durante 24 h, para determinar la biomasa por diferencia de peso. El filtrado obtenido se almacenó en refrigeración a una temperatura a -20°C para continuar los análisis. Todas las muestras se analizaron por triplicado y se determinaron los promedios obtenidos de cada tratamiento.

Los azúcares totales se determinaron por el método de Dubois (DuBois *et al.*, 2002) colocando 400 µL de la muestra en tubos de ensayo. Se añadieron 400 µL de fenol al 5% en agua, se agitó y se dejó en baño de agua con hielo por 5 minutos. Se añadió 1 mL de ácido sulfúrico H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado, y se dejó reposar en baño frío durante 15 minutos. Se agitó levemente y se calentó a 30°C por 5 min, se dejó enfriar a temperatura ambiente por 5 minutos. Se ajustó el espectrofotómetro con el blanco-sustrato, y se leyó a una absorbancia de 480 nm. Se realizó la curva de calibración con glucosa a 100 mg/L.

La cuantificación del ácido kójico (AK) se realizó mediante la técnica espectrofotométrica descrita por Bentley (1957). El método consistió en añadir 1 mL de la muestra (extracto de fermentación) previamente filtrada, y 2 mL de cloruro férrico 1% (FeCl<sub>3</sub>) en una solución de ácido clorhídrico HCl (0.1 N), diluyendo la mezcla con 5 mL de agua destilada. Las lecturas se tomaron a 505 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Fisher Scientific, modelo G10S, Waltham, MA, EE. UU.). La curva de calibración se preparó utilizando ácido kójico estándar (Sigma-Aldrich) a 1000 µg/L. Los datos analizados se expresaron en gramos de AK por litro de fermentación (g/L).

### Parámetros asociados al proceso de fermentación

Para obtener los valores teóricos de las cinéticas, se utilizó el modelo de crecimiento de Verhulst, y el factor de rendimiento de producto descritos por Robledo *et al.*, (2017) . El crecimiento microbiano se evaluó en cuanto al número de células (X) con respecto al tiempo (t), tomando en cuenta la máxima biomasa posible (X máximo) y la tasa máxima de crecimiento ( $\mu$  máximo):

$$X_{(t)} = \frac{X_{\max} X_0}{(X_{\max} - X_0)e^{-\mu_{\max} t} + X_0} \quad (1)$$

El rendimiento del producto en términos de biomasa ( $Y_{P/X}$ ) se determinó con la relación de producto formado sobre la biomasa producida:

$$Y_{P/X} = \frac{P_{\text{final}} - P_{\text{inicial}}}{X_{\text{final}} - X_{\text{inicial}}} \quad (2)$$

### Segunda etapa

Se evaluó la aplicación del ácido kójico obtenido en la etapa uno sobre cladodios de nopal verdura variedad Atlixco. Se analizaron diferentes concentraciones para evaluar el efecto del AK sobre el nopal y la reacción de la enzima polifenol oxidasa (PPO). Los cladodios se pelaron manualmente con un cuchillo afilado adecuado. Se tomaron 7 muestras de nopales sin espinas, contando el control, cortando cada cladodio en 4 partes. Para las dosis y pruebas se realizaron inmersiones tomando como factor la concentración de ácido kójico (2 g/L), tiempo de inmersión en valores de 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 y 8.0 minutos y tiempo de almacenamiento a una temperatura de 28°C, evaluando las muestras a las 48, 96 y 144 horas. Las variables de respuesta para la optimización del proceso fueron la cuantificación de la actividad de PPO, contenido de fenoles, contenido de proteínas totales y la coloración de los cladodios tratados.

### Determinaciones analíticas en el nopal (*Opuntia spp.*)

Para determinar el color se utilizó el colorímetro CHROMA METER CR-400 MARCA KONICA MINOLTA. La medición se realizó a 7 cladodios (3 medición por cladodio). Se usó la colorimetría del sistema  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ . Donde  $L^*$  corresponde a la luminosidad,  $a^*$  la coordenada de color entre verde y rojo, y  $b^*$  la coordenada de color entre amarillo y azul (Moritsuka *et al.*, 2019).

Extracción y cuantificación de Polifenol oxidasa (PPO). La preparación del polvo de acetona y la extracción de PPO se realizaron de acuerdo con el procedimiento indicado por Sciancalepore & Longone, (2002), descrito por Apodaca-Pérez *et al.*, (2016). Con algunas modificaciones, se pesaron 5 g de vegetal finamente picado y se le agregaron 100 mL de acetona fría (-20°C) y 0.035 g de polietilenglicol, y se homogenizó en una licuadora.

El homogeneizado obtenido se filtró con bomba de vacío utilizando papel Whatman N° 1, considerando el residuo en el filtro como pulpa. Al residuo (pulpa) se le realizaron 3 lavados con 100 mL de acetona fría (-20°C) c/u, agitando esta mezcla a 120 rpm durante 10 minutos por cada lavado. La pulpa se filtró y se recuperó en cada lavado hasta que se obtiene un polvo de color blanco (polvo de acetona). El polvo de acetona se dejó secar a temperatura de 25°C por 24 horas, y posteriormente se colocaron en frascos de plástico sellados y se almacenaron a -20°C, hasta su uso.

Para la extracción de la PPO se pesaron 0.3 g de polvo de acetona y se le agregó 40 mL de buffer fosfatos 0.05 M. A un pH de 6.5. Esta mezcla se sometió a agitación constante por 30 minutos a 4°C. Posteriormente, la muestra fue filtrada con gasas y fue centrifugada a 4000\* g a 4°C por un tiempo de 15 min. El sobrenadante obtenido representó el extracto enzimático, que se utilizó para la medición de actividad específica de PPO.

Medición de actividad PPO. La actividad específica de PPO se determinó midiendo la velocidad inicial de formación de quinona. A 1 mL del extracto enzimático se le agregó 0.25 ml de catecol 0.02 M en buffer de acetatos 0.05 M y un pH de 7.0. Se midió la velocidad a los 0, 3 y 8 minutos de formación de quinona, indicada por el incremento en absorbancia a 325 nm. Se calculó la pendiente de la parte inicial de la curva, expresando los resultados como unidades de actividad por miligramo de proteína. Una unidad de actividad de la enzima se definió como la cantidad de enzima que causa un cambio en absorbancia de 0.01/min.

La determinación de proteínas totales se realizó por el método de Bradford (Bradford, 1976). En un tubo de ensaye se colocaron 0.100 mL de muestra con una concentración de 100 a 1000 ppm de proteína, después se le agregaron 5 mL del reactivo Bradford, se agitó y se dejó reposar a temperatura ambiente por 10 min. Simultáneamente se preparó un tubo

blanco con 0.100 mL de H<sub>2</sub>O y 5 mL de reactivo Bradford, se leyó la absorbancia a 595 nm. Utilizando albúmina de suero de bovino como estándar.

La cuantificación de fenoles totales se realizó por el método de Yu y Dahlgren ( Yu & Dahlgren, 2000). Con modificaciones, se tomó cada muestra de nopal de acuerdo con las horas anteriormente mencionadas. Se pesaron 3 gramos y se licuaron con 200 mL de agua destilada, colocando 50 µL de extracto (muestra) en tubos de ensayo, adicionando 200 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu. A cada tubo se le añadieron 500 µL de carbonato de sodio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) al 20% (p/v). Finalmente se agregaron 5 mL de agua destilada, y se dejó reposar 30 minutos. Para el blanco se añadieron 50 µL de solución agua H<sub>2</sub>O: acetona (1:1 v/v), 200 µL del reactivo Folin Ciocalteu. 500 µL de carbonato de sodio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) al 20% y 5 mL de agua destilada. Se leyó la absorbancia por espectrofotometría a 750 nm. Para la curva de calibración se utilizó el ácido gálico (AG) a 1000 ppm. Los resultados se expresaron como mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/ g de peso seco.

### **Análisis estadístico**

Los datos reportados son el promedio de 3 repeticiones  $\pm$  su desviación estándar. Los datos fueron procesados por el software estadístico Minitab versión (17.1.017). Se realizaron análisis de varianza unidireccional (ANOVA unidireccional) y un análisis de prueba de medias de Tukey ( $p < 0.05$ ), para identificar grupos homogéneos.



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

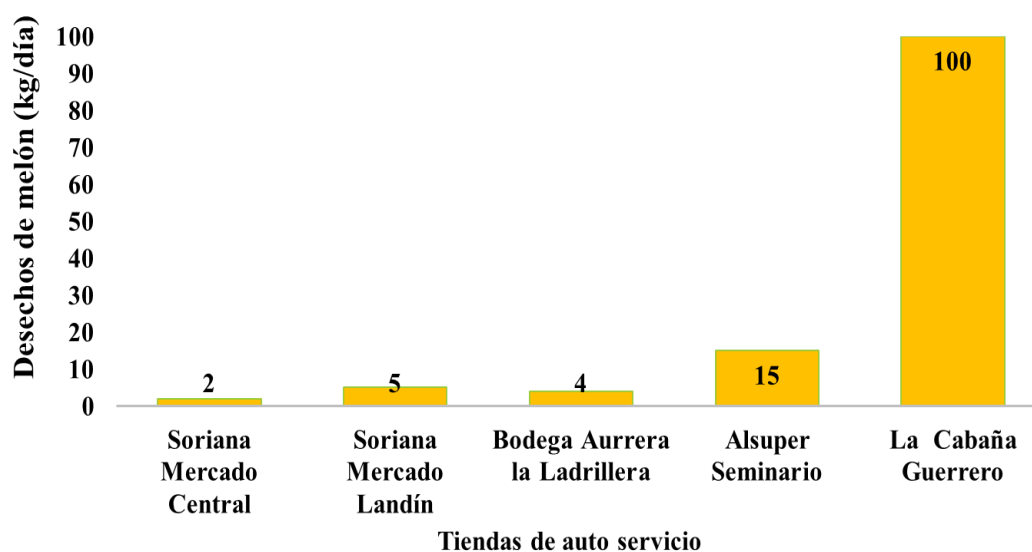
Del análisis de mercado en tiendas de autoservicio de la ciudad de Saltillo, Coahuila, México. En nopal se logró estimar que la variación ronda entre los 3 kg hasta los 25 kg de desechos de nopal verdura por día (Figura 1). En melón la variación ronda entre los 2 kg hasta los 100 kg de desechos por día (Figura 2). El melón *Cucumis melo* var. *reticulatus* es producido en la zona de la comarca lagunera de Coahuila México, sin embargo, se observa que los consumidores urbanos han cambiado con el tiempo sus hábitos de consumo; exigiendo productos de mayor calidad, siendo lo visual uno de los atributos más importantes. Sin embargo, en las cadenas comerciales, para responder a estas demandas, han implementado procesos más estrictos de calidad con sus proveedores, una de estos es mejorar la infraestructura.

Desde el almacenamiento y la distribución, se utiliza una cadena de frío para poder cumplir con la demanda y sobre todo hacer llegar el producto al mercado (Espinoza-Arellano *et al.*, 2019).

Sin embargo, en tiendas autoservicio locales una parte del melón se pierde por rajaduras, podredumbre y sobre maduración, considerándolos como desechos, los cuales generan a la vez una pérdida económica, pero sobre todo genera desperdicios, los cuales llegan a ser una fuente contaminante para el medio ambiente.

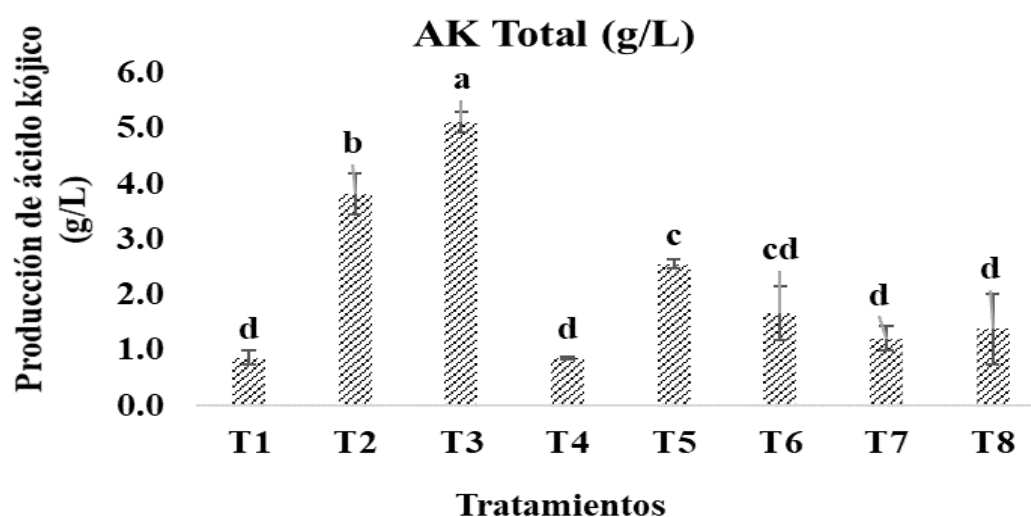


**Figura 1.** Cantidad de desechos de nopal que se generan en algunas tiendas de autoservicio de la Ciudad de Saltillo, Coahuila, México.



**Figura 2.** Cantidad de desechos de melón que se generan en algunas tiendas de autoservicio de la Ciudad de Saltillo, Coahuila, México.

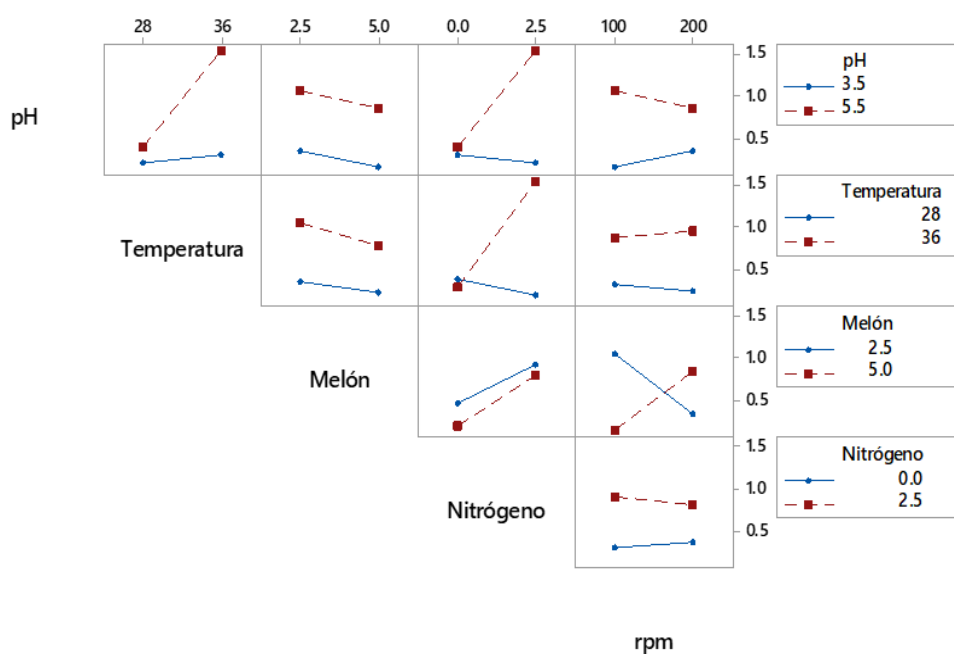
La adaptabilidad de *A. oryzae* para la producción de metabolitos secundarios está relacionada con su crecimiento. En la producción de AK se evaluaron 8 tratamientos diferentes que se muestran en Figura 3. En todos los tratamientos evaluados se mostró una producción de AK, sin embargo, en el tratamiento 3 se presentaron los valores más altos de producción de AK. En el ANOVA realizado para los tratamientos, se muestra que los factores de pH, temperatura, y contenido de nitrógeno, afectan la producción de AK (Tabla 4). Para las interacciones entre los factores, se mostró que la interacción temperatura-nitrógeno, y la concentración de melón-RPM, afectan la producción de AK en los tratamientos evaluados (Figura 4).



**Figura 3.** Tratamientos evaluados para la inducción de producción de ácido kójico en medio líquido por *Aspergillus oryzae*, utilizando desechos de melón en polvo como fuente de carbono. Se muestran las medias  $\pm$  y las barras de error muestran la desviación estándar. Las letras minúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (Tukey  $p=0.05$ ).

**Tabla 4.** Análisis de varianza para los factores evaluados en el diseño factorial fraccionado que afectan la producción de ácido kójico ( $p < 0.05$ ).

Fuente	DF	Suma cuadrada	Media cuadrada	valor f	valor p
Modelo	5	2.41163	0.48233	42.22	0.023
Lineal	5	2.41163	0.48233	42.22	0.023
pH	1	1.00347	1.00347	87,85	0.011
Temperatura	1	0.77847	0.77847	68,15	0.014
Cucumis	1	0.07605	0.07605	6.66	0,123
Nitrógeno	1	0.55359	0.55359	48,46	0.020
Rpm	1	0.00005	0.00005	0	0.953
Error	2	0.02285	0.01142		
Total	7	2.43448			



**Figura 4.** Interacción de los tratamientos evaluados para la inducción de producción de ácido kójico en medio líquido por *Aspergillus oryzae*, utilizando desechos de melón en polvo como fuente de carbono.

De acuerdo con el análisis estadístico se determinó que el tratamiento 3 presentó los mayores valores en cuanto a producción de ácido kójico (Figura 3). El tratamiento 3 consistió en un pH de 5.5, fuente de carbono 2.5 g/L, fuente de nitrógeno 2.5 g/L, temperatura 36°C, 100 RPM, obteniendo un valor de producción de 1.6 g/L de AK. El tratamiento 8 fue el que presentó un menor rendimiento con 0.2 g/L de AK. En el análisis de varianza para los factores evaluados (Tabla 4), los factores que influyen en la producción de AK fueron el factor pH, temperatura y fuente de nitrógeno. Los valores del tratamiento 3 están relacionados con las condiciones del medio y la fuente de nitrógeno. Estudios realizados por Sanjotha *et al.*, (2019) mencionan que los metabolitos secundarios y las enzimas producidas por diversas especies de hongos están sujetos a las condiciones de cultivo, la temperatura y el pH del medio, la composición del sustrato, los tipos de inductores y el inóculo utilizado durante los experimentos.

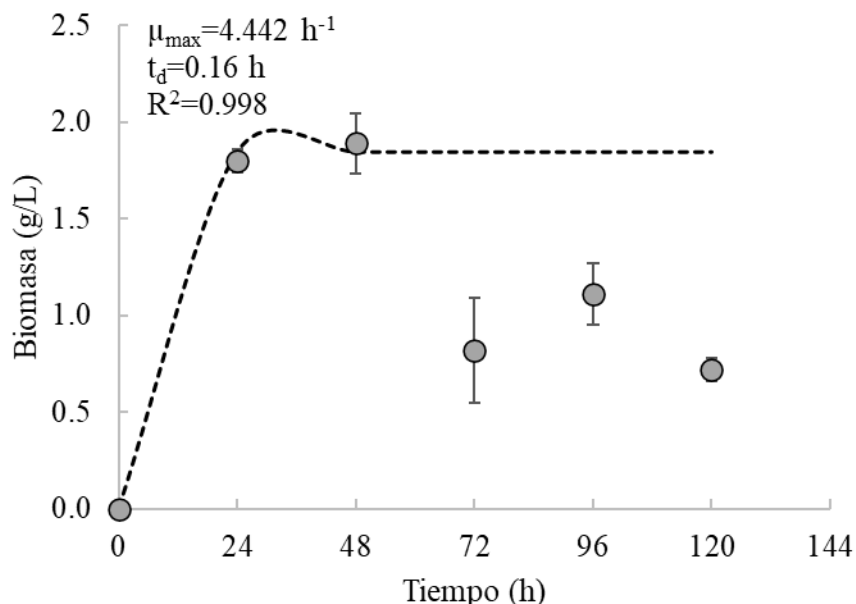
Otro estudio realizado por Kwak & Rhee, (1992) hace referencia a los valores de pH y temperatura, donde el intervalo de temperaturas óptimas para la fermentación del ácido kójico está entre los 29 y los 35°C, y para las especies de *Aspergillus oryzae* se utilizan valores alrededor de los 30°C para maximizar la producción del ácido kójico. Para el caso del pH óptimo de crecimiento, el más usado es cercano a 5.0. Un estudio realizado por Promsang *et al.*, (2019) mostró que el pH óptimo para la producción de ácido kójico por una cepa de *A. oryzae* oscilaba entre 3.0 y 5.0. Otros estudios realizados por Rosfarizan & Ariff, (2000), mencionan que el tipo de fuentes de nitrógeno influye tanto en el crecimiento del hongo como en la producción del ácido kójico, donde las fuentes de nitrógeno orgánico fueron preferibles a las fuentes de nitrógeno inorgánico, concluyendo que con 5 g/L de extracto de levadura tuvieron una producción máxima de ácido kójico (39.9 g/L).

El trabajo realizado por El-Aasar (2006) menciona que, la fuente de nitrógeno es uno de los factores más eficaces para la producción de ácido kójico; en su investigación, el extracto de levadura y las fuentes de nitrógeno de peptona promovieron la producción de ácido kójico, en comparación con el sulfato de amonio y el nitrato de amonio; el uso de extracto de levadura al 1% resultó en la mayor producción de ácido kójico (28.41 g/L).

La inducción de producción de ácido kójico en medio líquido por *Aspergillus oryzae* (Figura 4), se vio afectada por la interacción que se dio entre el factor temperatura-

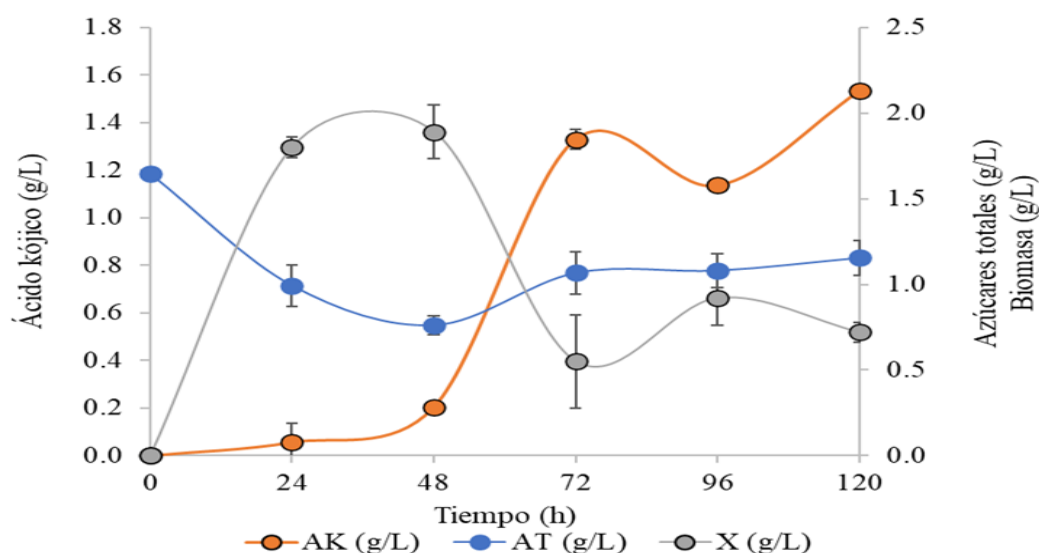
nitrógeno, y melón-RPM. Trabajos realizados por Futamura *et al.*, (2001) mencionan que las diferencias en la producción de ácido kójico y la capa micelial, pueden atribuirse a las condiciones de cultivo o a diferencias entre especies, donde la optimización de diferentes condiciones del medio de fermentación genera cambios en el rendimiento de ácido kójico en cultivo con agitación estática y rotatoria.

Los resultados de este estudio mostraron que en términos de producción general de AK mediante FML, las mejores condiciones son las que a continuación se describen: pH de 5.5, temperatura de 36°C, 2.5 g de materia seca de melón, 2.5 g de levadura, a 100 RPM. Para validar las condiciones antes mencionadas en la producción de AK, se evaluó una cinética de fermentación monitoreando la formación de biomasa, azúcares totales, y la producción de AK. El proceso de crecimiento del microorganismo alcanzó un máximo a las 48 horas de la fermentación, para posteriormente tener una disminución (Figura 5). La fase exponencial de crecimiento se presenta en las primeras 24 horas de proceso, con una velocidad máxima de 4.442/h, un tiempo de duplicación de 0.16 h, y un ajuste a la ecuación logística de Verhulst (Ecuación 1) de  $R^2 = 0.998$ .



**Figura 5.** Cinética de formación de biomasa en medio líquido por *Aspergillus oryzae*, a las 120 h utilizando 2.5 g/L de extracto de levadura como fuente de nitrógeno, y 2.5 g/L de melón como única fuente de carbono. Se muestran las medias  $\pm$  su desviación estándar. La línea punteada representa los valores de la biomasa modelada con la ecuación logística de Verhulst.

En la cinética de formación de biomasa en medio líquido por *A. oryzae*, se alcanzó un máximo a las 48 horas de la fermentación obteniendo un valor de 1.9 g/L de biomasa, para posteriormente tener una disminución como se muestra en la Figura 5. La fase exponencial de crecimiento se obtuvo en las primeras 24 horas de proceso con un valor de 1.7 g/L, con una velocidad máxima de 4.442/h, y un tiempo de duplicación de 0.16 h. El rápido crecimiento se debe al consumo de azúcares de fácil asimilación, que en este caso la fuente de carbono sustrato fue el melón, que contiene un 97% de azúcares solubles, de los cuales el 50% es sacarosa (Bouzo *et al.*, 2015). La cantidad de azúcares solubles presentes en el medio permite al microorganismo tener una duplicación celular más rápida, siendo el carbono una fuente de energía para formar nuevas células, debido a esto la generación de biomasa incrementa en las primeras horas, teniendo el pico más alto a las 48 horas. En una publicación realizada por Sauer *et al.*, (2013), menciona que bajas cantidades de glucosa se emplean mayoritariamente para la formación de biomasa.



**Figura 6.** Cinética de producción de ácido kójico, consumo de azúcares totales y formación de biomasa en medio líquido por *Aspergillus oryzae*, a las 120 h utilizando 2.5 g/L de extracto de levadura como fuente de nitrógeno y 2.5 g/L de melón como única fuente de carbono. Se muestran las medias y las barras de error muestran la desviación estándar.

La presencia de glucosa actúa como precursor de la síntesis del AK, por otro lado, la síntesis de AK comenzó a partir de las 24 horas, teniendo los mayores valores a partir de las 72 horas y un máximo a las 120 horas (Figura 6). Así mismo, el comportamiento del consumo de azúcares totales comenzó a disminuir desde el inicio de la fermentación, siguiendo una tendencia en decremento. El microorganismo comienza a metabolizar la fuente de carbono desde las primeras horas del bioproceso, y cuando se agotó la fuente de glucosa en el medio el crecimiento alcanzó la fase estacionaria, generando en respuesta un incremento de producción de AK. Por otra parte, en un estudio realizado por Quiterio-Gutiérrez *et al.*, (2023) mencionan que los metabolitos secundarios se forman en las fases logarítmica tardía y estacionaria, durante las cuales la fermentación ya ha sido acidificada por metabolitos primarios.

El consumo de azúcares totales en las primeras 48 horas, tiene un comportamiento muy acelerado en cuanto al consumo por el hongo *A. oryzae*, ya que, para su formación de



biomasa y crecimiento, requiere glucosa como la fuente de carbono. La mayor tasa de crecimiento para la biomasa también se da a las 48 horas, mientras que la producción de ácido kójico anterior a las 48 horas es muy baja. El hongo al estar en condiciones de crecimiento, primero producirá metabolitos primarios para su biomasa, y en condiciones de estrés producirá metabolitos secundarios como el ácido kójico. Otra posible explicación a la alta producción de ácido kójico después de las 72 horas pudiera ser que, debido a que la fuente de carbono es a base de azúcares de melón (sacarosa, glucosa y fructosa), la glucosa libre de fácil asimilación se consumió durante las primeras 48 horas, y la sacarosa y fructosa durante las horas posteriores. Lo anterior pudo ocasionar un tipo de estrés hacia el microorganismo, desencadenando la mayor tasa de producción ácido kójico, siendo a las 72 h, y 120 h con 1.33 g/L y 1.54 g/L de AK respectivamente. Trabajos realizados por Navarro, Villa *et al.*, (2004) menciona que el contenido de azúcares del melón, está directamente relacionado con la presencia de K en el floema, que interviene en el transporte de sacarosa a los frutos. Algunas investigaciones (Ariff *et al.*, 1997) reportan que la producción de AK y la biomasa fúngica de *Aspergillus oryzae* aumentaron a medida que avanzaba la fermentación, alcanzando un valor máximo de biomasa en el día 12, reduciendo la glucosa hasta en un 42% coincidentemente con la producción de ácido kójico. Estudios realizados por El-Kady *et al.*, (2014) observaron un consumo de más del 90% de glucosa en el día 12 por la cepa *Aspergillus oryzae*, y la producción de AK comenzó a aumentar a partir del día 6. Otra investigación realizada por Rosfarizan & Ariff, (2000) consideraron los parámetros de biomasa (crecimiento fúngico), sustrato (azúcares reductores) y producto (ácido kójico) para la simulación de la producción de AK durante los procesos de fermentación, y sugirieron que los modelos propuestos basados en ecuaciones logísticas son suficientes para describir el crecimiento fúngico.

### Segunda etapa

Para la evaluación del efecto de la aplicación del AK sobre los cladodios de nopal, se determinaron el color, presencia/ausencia de microorganismos, contenido de proteínas, contenido de fenoles totales, actividad enzimática polifenol oxidasa (PPO). Evaluando a las 48, 96 y 144 horas, a una temperatura de 28°C y a un tiempo de inmersión de cada tratamiento con ácido kójico. A continuación, se describen los tratamientos: T1 (0.5 min), T2 (1.0 min), T3 (2.0 min), T4 (4.0 min), T5 (8.0 min), T6 (16 min). El número de repeticiones por cada tratamiento fueron 3.

En la Tabla 5 se muestra el valor de L\* luminosidad, donde se observó diferencias significativas ( $p<0.05$ ) en el tratamiento 3 en el día 6 mostró un valor de  $57.57 \pm 0.58$  con un incremento del 11.87 % comparado con el testigo. En el valor de croma (C\*ab) se encontraron diferencias significativas ( $p<0.05$ ) en el día 6 el T1, muestra valores de  $31.68 \pm 1.19$ , que representa un color verde claro incrementando 23.33% comparado con el testigo, En el valor tono (H\*ab) en el día 4, no se encontraron diferencias significativas ( $p<0.05$ ) entre los tratamientos. Los resultados fueron similares a los reportados por Rodríguez-Félix *et al.*, (2016) donde evaluaron la calidad del nopal verdura fresco cortado mostrando un valor de L\* de 52.2 a 55.3, un ángulo de tono (AT) entre 123 y 124° y un croma de 22.1 a 24.2 que representa un color verde claro.

**Tabla 5.** Datos del color en nopal en la escala CIELab, valores de croma (C) y tono ( $^{\circ}$ h). En nopal verdura sin espinas tratados con ácido kójico, Tiempo de inmersión T1(0.5 min), T2 (1.0 min), T3 (2.0 min), T4 (4.0 min), T5 (8.0 min), T6 (16 min). Se muestran las medias  $\pm$  su desviación estándar. Medias con una letra común no son significativamente diferentes (Tukey  $p < 0.05$ ) evaluando las filas entre día.

Tratamientos	L*	a*	b*	c	h	
día 2	Testigo	52.85 ±1.52 bc	15.93 ± 0.31 ab	25.70 ± 0.69 b	30.24 ± 0.51 b	58.21 ± 1.03 b
	T1	52.11 ± 1.20 cd	14.88 ± 1.37 bc	23.66 ± 1.02 c	27.95 ± 1.59 c	57.89 ± 1.30 bc
	T2	55.85 ± 0.86 a	16.81 ± 0.66 a	29.12 ± 0.70 a	33.62 ± 0.85 a	60.00 ± 0.70 ab
	T3	55.74 ± 1.06 a	17.70 ± 0.49 a	28.08 ± 0.90 a	33.20 ± 0.97 a	57.76 ± 0.48 bc
	T4	52.60 ± 0.57 cd	13.55 ± 0.78 c	24.78 ± 1.03 bc	28.26 ± 1.00 c	61.31 ±1.61 a
	T5	54.45 ± 0.91 ab	16.84 ± 1.57 a	27.99 ± 0.76 a	32.68 ± 0.15 a	59.04 ± 3.05 ab
	T6	50.94 ± 0.68 d	14.95 ± 1.23 bc	21.36 ± 0.88 d	25.51 ± 1.08 d	55.04 ± 2.34 c
día 4	Testigo	53.60 ± 1.58 c	14.04 ± 2.74 a	24.29 ± 1.45 c	28.10 ± 2.40 b	60.15 ± 4.08 ab
	T1	57.12 ± 1.54 ab	14.78 ± 2.28 a	26.30 ± 4.54 bc	30.22 ± 4.91 ab	60.59 ± 2.52 ab
	T2	57.32 ± 1.27 ab	14.65 ± 2.83 a	31.52 ± 3.02 a	34.87 ± 2.38 a	64.97 ± 5.50 a
	T3	57.98 ± 0.35 a	16.94 ± 1.31 a	29.38 ± 0.63 ab	33.92 ± 0.80 a	60.05 ± 2.05 ab
	T4	51.00 ± 0.26 d	14.88 ± 0.21 a	22.38 ± 0.58 c	26.88 ± 0.36 b	56.36 ± 1.06 b
	T5	55.57 ± 1.98 bc	15.61 ± 2.62 a	25.65 ± 3.53 bc	30.11 ± 3.41 ab	58.56 ± 5.44 ab
	T6	55.31 ± 1.55 bc	13.04 ± 3.10 a	23.41 ± 3.58 c	26.81 ± 4.60 b	61.13 ± 2.53 ab
día 6	Testigo	50.74 ± 2.63 c	11.41 ± 3.23 a	21.41 ± 3.20 b	24.29 ± 4.30 b	62.34 ± 3.47 a
	T1	54.53 ± 2.28 b	16.75 ± 0.47 a	26.87 ± 1.63 a	31.68 ± 1.19 a	58.01 ± 2.18 a
	T2	55.10 ± 1.38 ab	12.48 ± 2.11 a	24.89 ± 1.91 ab	27.86 ± 2.66 ab	63.50 ± 2.02 a
	T3	57.57 ± 0.58 a	13.09 ± 5.63 a	26.02 ± 3.31 ab	29.29 ± 5.35 ab	64.23 ± 7.74 a
	T4	52.41 ± 1.27 bc	13.91 ± 2.75 a	25.03 ± 0.27 ab	28.69 ± 1.47 ab	61.10 ± 4.72 a
	T5	53.06 ± 0.67 bc	13.02 ± 3.05 a	22.34 ± 4.53 ab	25.96 ± 4.66 ab	59.53 ± 6.39 a
	T6	53.52 ± 0.69 b	11.59 ± 4.11 a	23.47 ± 3.23 ab	26.29 ± 4.24 ab	64.13 ± 6.47 a

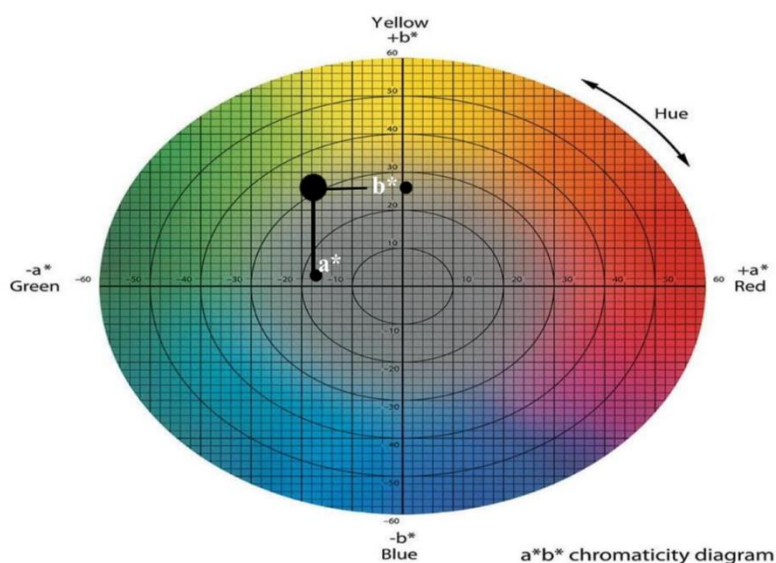
Fórmulas utilizadas para determinar los valores de cromaticidad (C) y valor de tono ( $^{\circ}$ h).

Fórmula Croma  $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$  El valor de  $C^*$  es cero, centros de un color acromático (gris), e indica colores grisáceos, el incremento de los valores (20 a 40) indican colores apagados y valores superiores señalan colores vivos.

Fórmula AT tono ( $h^{\circ}$ )  $h = \arctan(b^* / a^*)$  se expresa como grados en una escala de 0 a  $360^{\circ}$  (McGuire, 1992).

A continuación, se muestran los datos del color en nopal verdura sin espinas tratados con ácido kójico en la escala de espacio de color (CIELab), los datos de los tratamientos obtenidos de la prueba de comparación de medias por Tukey de la tabla 5, en el día 6, tiempo de 144 horas, el T1 muestra valores significativos,  $a^* -16.75 \pm 0.47$ ,  $b^* 26.87 \pm 1.63$ , el valor del Croma  $31.68 \pm 1.19$ . Al colocar los valores de  $a^*$  y  $b^*$  en el espacio de color (CIELab), al interceptarse los valores en el cuadrante nos da una coloración verde claro.

Escala (CIELab,)  $L^* a^* b^*$ . L luminosidad, a y b son coordenadas de cromaticidad. En el diagrama de cromaticidad  $a^*$  (-) verde y  $a^*$  (+) indica el color rojo,  $b^*$  (+) indica el color amarillo y b (-) indica el color azul.



#### Tratamiento 1

$a^* -16.75 \pm 0.47$

$b^* 26.87 \pm 1.63$

Croma ( $C^*_{ab}$ )

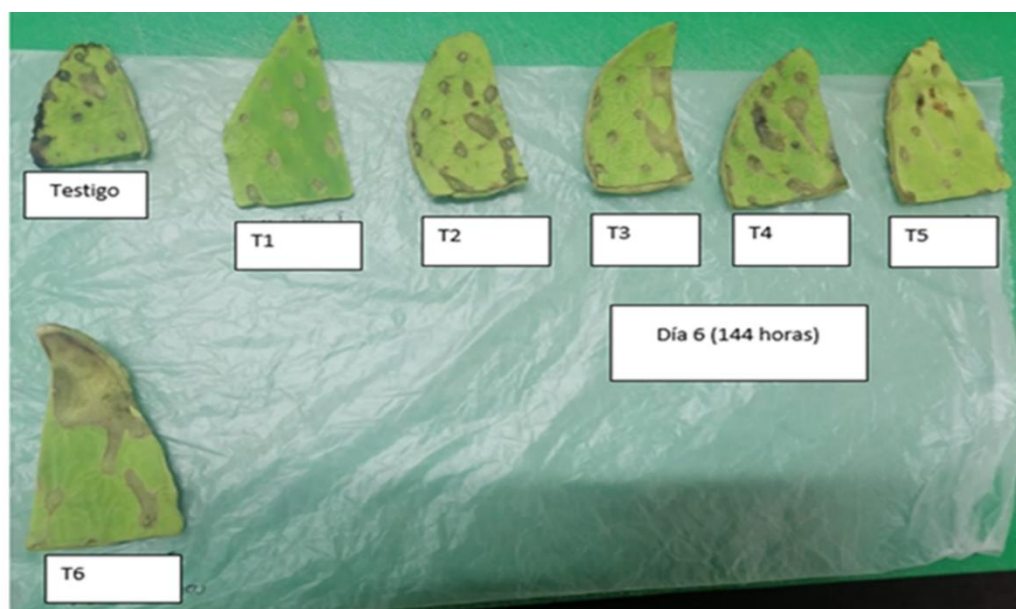
(C) Croma  $31.68 \pm 1.19$

**Figura 7.** Datos del color en nopal en nopal verdura sin espinas tratados con ácido kójico, espacio de color (CIELab)

### Presencia de microorganismos

La calidad es uno de los atributos usados por el consumidor sobre todo en la industria como criterio de selección, por lo tanto indicador de la calidad general.

En la Figura 8 no se observó la presencia de microorganismo en las muestras de nopal tratados con ácido kójico del día 2 al día 6, esto podría deberse a la acción que realiza el ácido kójico. El AK tiene la función de actuar como un agente anti fúngico, Sin embargo, en el campo de la agricultura, ha sido preferido por su actividad biodegradable debido a sus diversas actividades biológicas como antibacteriano, anti fúngico, antioxidante. Además exhibe actividades bioplaguicidas y biofungicidas en la agricultura (Wang *et al.*, 2023) .

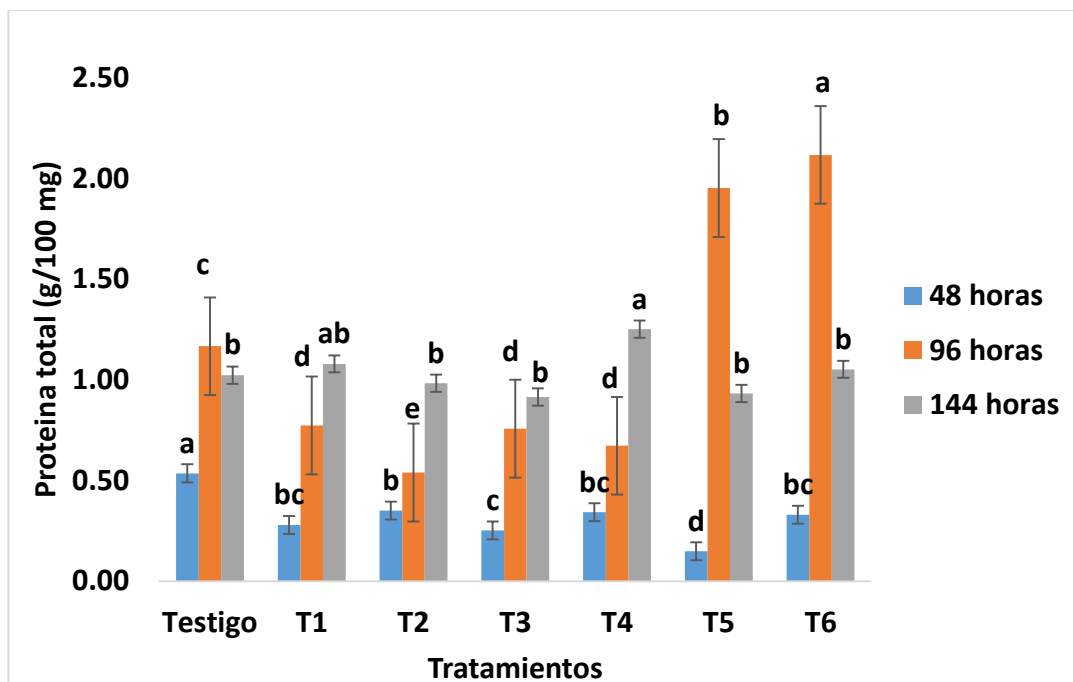


**Figura 8.** Muestras de nopal tratados con ácido kójico, evaluando las muestras a 144 h, día 6, a una temperatura de 28°C. Tiempo de inmersión T1(0.5 min), T2 (1.0 min), T3 (2.0 min), T4 (4.0 min), T5 (8.0 min), T6 (16 min).

Por otra parte, la presencia de manchas oscuras aparece en los tejidos expuestos donde las espinas se eliminaron, el daño fue más intenso en el control donde la deshidratación fue más severa. Este resultado es similar al estudio de Guevara *et al.*, (2003) quienes reportaron que el oscurecimiento en las zonas desespinado del nopal fue más severo en la muestra control que no estuvo en envases con atmosfera modificada.

### Contenido de proteínas

El contenido de proteínas en el nopal puede variar según la variedad y el método de preparación. En general, se estima que el nopal contiene alrededor de 1.5 gramos de proteína por cada 100 gramos de porción comestible (Rodríguez-Felix & Cantwell, 1988). En la Figura 9, se muestra el contenido de proteína en muestras de nopal sin espinas tratados con ácido kójico donde indica que el T6 a un tiempo de 96 horas incremento un 44%, comparado con el testigo, esto se debe al tiempo de concentración y tiempo de inmersión ya que el ácido kójico protegió eficazmente la estructura de la proteína evitando así la degradación. Sin embargo estudios realizados J. Rodríguez, (2012) donde evaluaron la calidad nutritiva y densidad microbiana de nopal duraznillo (*Opuntia leucotricha*) fermentado en estado sólido, durante 24 h, con aditivo y sin chamuscar, los resultados que obtuvieron fue que el contenido de proteína no se vio afectada, presento una buena calidad nutricional, que puede ser utilizado para complementar la alimentación del ganado ovino o caprino en pastoreo, ya que se sabe que el nopal es un alimento que es utilizado en la dieta para el consumo humano y como forraje para ganado debido a su contenido de proteína. Otro este estudio realizado por Hou *et al.*, (2023) donde investigaron el efecto del ácido kójico sobre los cambios en la microestructura y la proteína miofibrilar de la carne de pato durante el almacenamiento superrefrigerado, observaron que las muestras tratadas con ácido kójico, al 0,8% (m/v) aumentó la capacidad de retención de agua, redujo el contenido de carbonilo y la degradación de proteínas, y disminuyó la pérdida de contenido de  $\alpha$ -hélice de las proteínas miofibrilares, reduciendo la oxidación de la proteína y prolongar su vida útil hasta por 6 semanas.



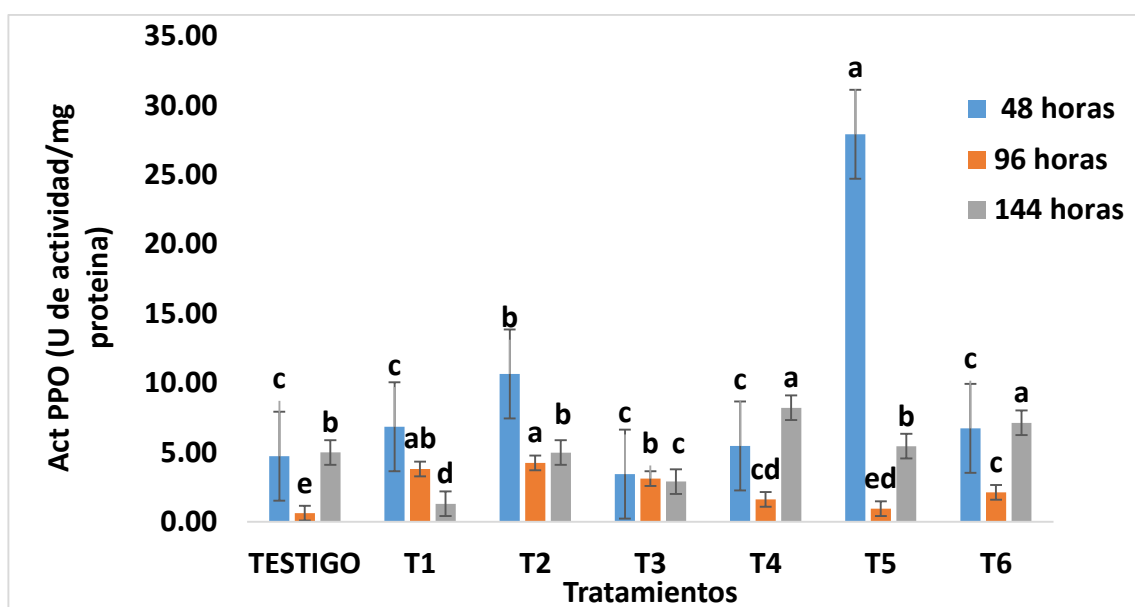
**Figura 9.** Contenido de proteína total en muestras de nopal tratadas con ácido kójico. Tiempo de inmersión en valores de T1 (0.5 min), T2 (1.0 min), T3 (2.0 min), T4 (4.0 min), T5 (8.0 min), T6 (16 min), evaluando las muestras a las 48, 96 y 144 horas. Medias con una letra común no son significativamente diferentes (Tukey  $p < 0.05$ )

### Inhibición de la actividad polifenol oxidasa (PPO)

Las enzimas oxidativas como la polifenol oxidasa (PPO) y la peroxidasa (POD) causan la oxidación de los compuestos fenólicos debido a la ruptura de la compartimentación celular y conducen a la formación de quinonas dentro de la célula, sin embargo, el oscurecimiento enzimático ocurre cuando los sustratos fenólicos, la PPO y el oxígeno molecular se unen bajo condiciones apropiadas de pH, temperatura y actividad de agua (Apodaca-Pérez et al., 2016).

La aplicación del ácido kójico ayuda a la inhibición de la actividad de la enzima PPO. La Figura 10, muestra los resultados de la comparación de medias por Tukey ( $p < 0.05$ ), donde en la determinación de la actividad específica del extracto (AE) de la enzima polifenol oxidasa (PPO) en cada uno de los tratamientos con AK. Los resultados muestran que el tratamiento T1, comparado con el testigo muestran diferencias significativas. El T1 aun tiempo de inmersión 30 segundos en AK, a las 144 horas, muestra valores más bajos de 1.29 unidades de actividad por miligramo de proteína, en pencas de nopal desespinado

tratados con ácido kójico, donde la actividad de PPO disminuyó logrando un mayor grado de inhibición de la enzima. Los resultados del estudio fueron similares a los realizados por Apodaca- Pérez et al., (2016) donde evaluaron la actividad específica de PPO en cuatro diferentes variedades de nopal *Opuntia ficus indica* de variedades comerciales COPENA F-1, COPENA V-1, Milpa Alta y Atlixco, donde la variedad de nopal Atlixco presentó los valores más bajos de absorbancias, aún después de 48 h con valores de absorbancia a 420 nm de 0 a 0.2, teniendo así menor tendencia a oscurecerse y un menor contenido de ácido ascórbico. Estudios realizados por Denoya *et al.*, (2012) donde evaluaron la actividad enzimática PPO en manzanas cv. Granny Smith mínimamente procesadas, las rodajas de manzanas sometidas a los distintos tratamientos, demostró que los tratamientos I y II, aun tiempo evaluado de 16 días, ayudaron a retardar el pardeamiento de la enzima PPO. Los tratamientos aplicados fueron: I. 2% ácido ascórbico + 1% ácido cítrico + 0.5% EDTA; II. 1% ácido ascórbico + 0.5 % ácido cítrico + 0.25%.



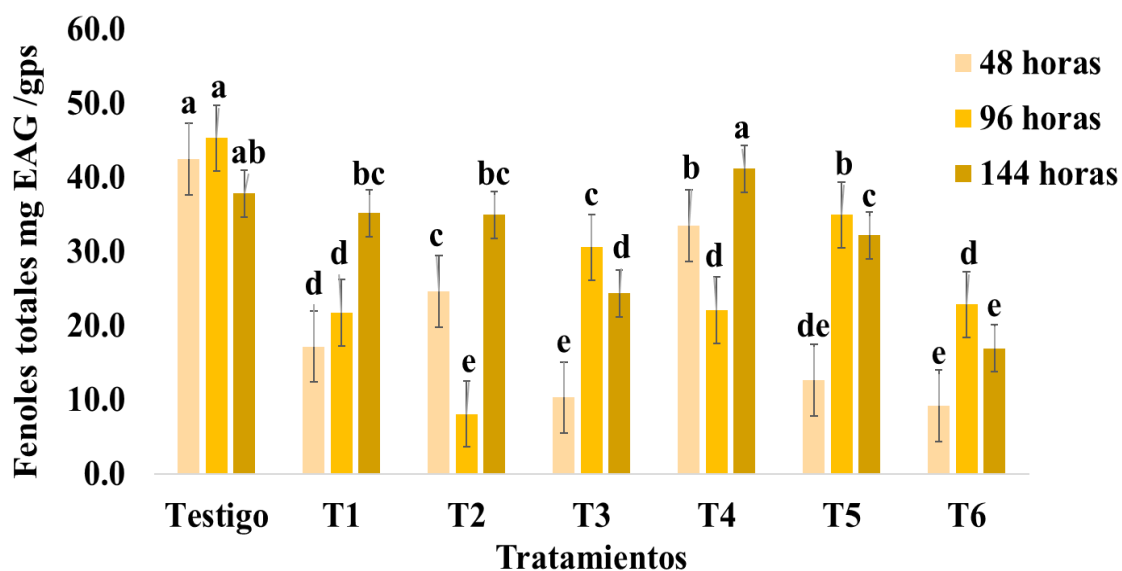
**Figura 10.** Actividad de la enzima polifenol oxidasa (PPO). Tiempo de inmersión en valores de T1 (0.5 min), T2 (1.0 min), T3 (2.0 min), T4 (4.0 min), T5 (8.0 min), T6 (16 min) tiempo de almacenamiento a una temperatura de 28°C, evaluando las muestras a las 48, 96 y 144 horas. Medias con una letra común no son significativamente diferentes Tukey  $p < 0.05$



### Contenido de fenoles

El contenido de fenoles totales en muestras de nopal variedad Atlixco. Los resultados se expresaron como mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/ g de peso seco, como se muestran en la Figura 11. Los resultados muestran diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0.05$ ). El testigo mostro un incremento del 43% de fenoles totales en comparación con el T2 a un tiempo de 48 horas, sin embargo, a las 96 horas el T3 presentó una disminución de un 33% comparado con el testigo, a un tiempo de 144 horas, el testigo sigue mostrando los valores más altos con un incremento de 55 % comparado con el T6, esto pudo deberse a que el testigo sin ser tratado con ácido kójico mantuvo por más tiempo su contenido en antioxidantes, los resultados difieren con lo mencionado por Apodaca-Pérez *et al.*, (2016) donde evaluaron cuatro variedades de nopal y donde la variedad Atlixco presentó el menor contenido de fenoles totales (12.12mgEAG/g peso seco). Sin embargo estudio realizado por Corral-Aguayo *et al.*, (2008) donde determinaron la cantidad de compuestos fenólicos, en la variedad de nopal silvestre Morado, mostraron un contenido (19.9 mg EAG/ g peso seco), la cantidad de los compuestos fenólicos, así como la capacidad antioxidante de éstos puede variar dependiendo del cultivar, la temperatura y región de cultivo.

Los fenoles son compuestos químicos que se encuentran ampliamente distribuidos en las frutas y vegetales y considerados metabolitos secundarios, se caracterizan por tener un anillo aromático, son solubles en agua, alcohol y muchos éteres, contribuyen a la pigmentación de muchas partes de la planta, y actúan como colorantes, antioxidantes y proporcionan sabor (Gimeno Creus, 2004).



**Figura 11.** Contenido de fenoles totales en nopal variedad Atlixco. Tratadas con ácido kójico. Tiempo de inmersión en valores de T1 (0.5 min), T2 (1.0 min), T3 (2.0 min), T4 (4.0 min), T5 (8.0 min), T6 (16 min), evaluando las muestras a las 48, 96 y 144 horas. Medias con una letra común no son significativamente diferentes Tukey  $p < 0.05$ .

## CONCLUSIÓN

Los objetivos planteados si se lograron.

La hipótesis planteada si se aprueba.

Se logró producir un extracto de fermentación rico en ácido kójico (AK) con el uso de residuos de melón como fuente de carbono.

La aplicación del extracto de fermentación AK en cladodios de nopal verdura mínimamente procesados retarda el pardeamiento por oxidación, mejora el color y retarda la melanosis indeseable, y así mismo, prolonga su vida de anaquel por más tiempo y evita que se presente crecimiento de hongos y microorganismos.

Este proyecto tiene la visión de alargar la vida de anaquel del nopal verdura, mejorar la calidad de exportación y sobre todo dar un valor agregado a los desperdicios del melón trabajando con la agricultura sustentable.

## LITERATURA CITADA

- Ammar, H. A. M., Ezzat, S. M., & Houseny, A. M. (2017). Improved production of kojic acid by mutagenesis of *Aspergillus flavus* HAK1 and *Aspergillus oryzae* HAK2 and their potential antioxidant activity. *3 Biotech*, 7(5), 276. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0905-4>
- Anaya-Pérez, M. A., & Bautista-Zane, R. (2008). El nopal forrajero en México: Del siglo XVI al siglo XX. *Agricultura, sociedad y desarrollo*, 5(2), 167–183. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1870-54722008000200001&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1870-54722008000200001&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Apodaca-Pérez, J. M., Martínez-Miranda, M. de la L., Robles-Burgueño, M. del R., Rodríguez Félix, A., Apodaca-Pérez, J. M., Martínez-Miranda, M. de la L., Robles-Burgueño, M. del R., & Rodríguez Félix, A. (2016). Polifenoloxidasas, fenoles totales y oscurecimiento de nopal verdura. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 7(3), 531–543. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S2007-09342016000300531&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2007-09342016000300531&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Ariff, A. B., Rosfarizan, M., Herng, L. S., Madihah, S., & Karim, M. I. A. (1997). Kinetics and modelling of kojic acid production by *Aspergillus flavus* Link in batch fermentation and resuspended mycelial system. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 13(2), 195–201. <https://doi.org/10.1023/A:1018593815266>
- Bentley, R. (1957). [41] Preparation and analysis of Kojic acid. En *Methods in Enzymology* (Vol. 3, pp. 238–241). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(57\)03381-9](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(57)03381-9)
- Bouzo, C., Lavanderos Becerra, D., Ceccoli, G., & Gariglio, N. (2015). Cociente fototermal en melón y su relación con la concentración de azúcares en los frutos. *Scientia Agropecuaria*, 6(3), 217–221. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2015.03.08>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1), 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

- Cantwell, M., Rodríguez-Felix, A., & Robles-Contreras, F. (1992). Postharvest physiology of prickly pear cactus stems. *Scientia Horticulturae*, 50(1), 1–9. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(05\)80003-2](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(05)80003-2)
- Casas, A., & Barbera, G. (2002). Domesticación y difusión mesoamericana. En A. Portes & P. Nobel (Eds.), *Cacti: Biology and Uses* (p. 0). University of California Press. <https://doi.org/10.1525/california/9780520231573.003.0009>
- Chen, J. S., Wei, C. I., Rolle, R. S., Otwell, W. S., Balaban, M. O., & Marshall, M. R. (1991). Inhibitory effect of kojic acid on some plant and crustacean polyphenol oxidases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39(8), 1396–1401. <https://doi.org/10.1021/jf00008a008>
- Codex Alimentarios. (2006). *DECLARATORIA de vigencia de la Norma Mexicana NMX-FF-068-SCFI-2006*. <https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/1558/seeco1/seeco1.htm>
- Corral-Aguayo, R. D., Yahia, E. M., Carrillo-Lopez, A., & González-Aguilar, G. (2008). Correlation between Some Nutritional Components and the Total Antioxidant Capacity Measured with Six Different Assays in Eight Horticultural Crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(22), 10498–10504. <https://doi.org/10.1021/jf801983r>
- Denoya, G. I., Ardanaz, M., Sancho, A. M., Benítez, C. E., González, C., & Guidi, S. (2012). Efecto de la aplicación de tratamientos combinados de aditivos sobre la inhibición del pardeamiento enzimático en manzanas cv. Granny Smith mínimamente procesadas. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 38(3), 263–267. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4168728>
- DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (2002, mayo 1). *Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances* (world) [Research-article]. ACS Publications; American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- El-Aasar, S. A. (2006). *Cultural Conditions Studies on Kojic Acid Production by*. 8(4).
- El-Kady, I. A., Zohri, A. N. A., & Hamed, S. R. (2014). Kojic Acid Production from Agro-Industrial By-Products Using Fungi. *Biotechnology Research International*, 2014, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2014/642385>

- Espinoza-Arellano, J. D. J., Orona-Castillo, I., Guerrero-Ramos, L. A., Molina-Morejón, V. M., & Ramírez-Quiroga, E. C. (2019). Análisis del financiamiento, comercialización y rentabilidad del cultivo del melón con enfoque de “siembras por etapas” en la Comarca Lagunera de Coahuila, México. *CienciaUAT*, 13(2), 71. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v13i2.1054>
- Futamura, T., Okabe, M., Tamura, T., Toda, K., Matsunobu, T., & Park, Y. S. (2001). Mejora de la producción de ácido kójico por una cepa mutante de *Aspergillus oryzae*, MK107-39. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 91(3), 272–276. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(01\)80133-X](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(01)80133-X)
- García, M., Morales, S., Rodríguez, A., & Robledo, A. (2020). *Efecto de la agitación en la producción de ácido kójico mediante hongos filamentosos*.
- Gimeno Creus, E. (2004). Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. *Offarm*, 23(6), 80–84. <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-compuestos-fenolicos-un-analisis-sus-13063508>
- Griffith, M. P. (2004). The origins of an important cactus crop, *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae): New molecular evidence. *American Journal of Botany*, 91(11), 1915–1921. <https://doi.org/10.3732/ajb.91.11.1915>
- Guevara, J. C., Yahia, E. M., Brito de la Fuente, E., & Biserka, S. P. (2003). Efectos de concentraciones elevadas de CO en envasado en atmósfera modificada sobre la calidad de tallos de nopal (*Opuntia* spp.)2. *Postharvest Biology and Technology*, 29(2), 167–176. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(03\)00021-8](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(03)00021-8)
- Hou, W., Lin, Y., Zhang, Y., Liu, T., Du, J., Yi, Y., & Wang, H. (2023). Effects of kojic acid on changes in the microstructure and myofibrillar protein of duck meat during superchilled storage. *Journal of Food Science*, 88(3), 977–987. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16448>
- Kwak, M. Y., & Rhee, J. S. (1992). Cultivation characteristics of immobilized *Aspergillus oryzae* for kojic acid production. *Biotechnology and Bioengineering*, 39(9), 903–906. <https://doi.org/10.1002/bit.260390904>
- Maki-Díaz, G., Peña-Valdivia, C. B., García-Nava, R., Arévalo-Galarza, M. L., Calderón-Zavala, G., & Anaya-Rosales, S. (2015). Características físicas y químicas de nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*) para exportación y consumo nacional.

- Agrociencia*, 49(1), 31–51.  
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1405-31952015000100003&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1405-31952015000100003&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- McGuire, R. G. (1992). Reporting of Objective Color Measurements. *HortScience*, 27(12), 1254–1255. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.27.12.1254>
- Miluska.Jara. (2024). Objetivos y metas de desarrollo sostenible. *Desarrollo Sostenible*.  
<https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/sustainable-development-goals/>
- Moritsuka, N., Kawamura, K., Tsujimoto, Y., Rabenarivo, M., Andriamananjara, A., Rakotoson, T., & Razafimbelo, T. (2019). Comparison of visual and instrumental measurements of soil color with different low-cost colorimeters. *Soil Science and Plant Nutrition*, 65(6), 605–615. <https://doi.org/10.1080/00380768.2019.1676624>
- Muciño Castillo, G. (2014). *Evaluación nutricional de harina de nopal en dietas para borregos*. <http://colposdigital.colpos.mx:8080/xmlui/handle/10521/2305>
- Navarro,. (2023). *Statista—The Statistics Portal*. Statista.  
<https://www.statista.com/aboutus/our-research-commitment>
- Navarro, Villa, P., Tenorio, M. D., Esteban, M. A., & Mendoza, M. C. (2004). Compositional changes during ripening of two cultivars of muskmelon fruits. *Food Chemistry*, 87(2), 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.11.009>
- ONU. (2024). ONU. United Nations; United Nations. <https://www.un.org/es/>
- Osorio-Córdoba, J., Pelayo-Zaldívar, C., Verde-Calvo, J. R., Ponce-Valadez, M., Díaz de León-Sánchez, F., Bosquez-Molina, E., & Rodríguez Huevo, M. E. (2011). Conservación de nopal verdura “Milpa Alta” (*Opuntia ficus indica* Mill.) desespinado en envases con atmósfera modificada. *Revista mexicana de ingeniería química*, 10(1), 93–104.  
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1665-27382011000100010&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1665-27382011000100010&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Perez, L., & Lourdes, G. (2018). *Producción de cuatro variedades de nopal verdura bajo macrotúnel*. <https://repositorio.uaaan.mx/xmlui/handle/123456789/45201>
- Promsang, A., Rungsardthong, V., Thumthanaruk, B., Puttanlek, C., Uttapap, D., Foophow, T., Phalathanaporn, V., & Vatanyoopaisarn, S. (2019). Effect of culture conditions and medium compositions on kojic acid production by *Aspergillus*

- oryzae ATCC 10124. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 346(1), 012047. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/346/1/012047>
- Quevedo-Preciado, K. L., Villegas-Ochoa, M. A., González-Ríos, H., & Rodríguez-Félix, A. (2005). CALIDAD DE NOPAL VERDURA MÍNIMAMENTE PROCESADO. EFECTO DE TEMPERATURA E INHIBIDORES DEL OSCURECIMIENTO. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 28(3), 261–261. <https://doi.org/10.35196/rfm.2005.3.261>
- Quiterio-Gutiérrez, T., González-Morales, S., González-Fuentes, J. A., Benavides-Mendoza, A., Fernández-Luqueño, F., Medrano-Macías, J., & Robledo-Olivo, A. (2023). Production of Kojic Acid by *Aspergillus niger* M4 with Different Concentrations of Yeast Extract as a Nitrogen Source. *Processes*, 11(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/pr11061724>
- Reyes-Terrazas, A. S., Flores-Sánchez, D., Navarro-Garza, H., Pérez-Olvera, M. A., Almaguer-Vargas, G., Reyes-Terrazas, A. S., Flores-Sánchez, D., Navarro-Garza, H., Pérez-Olvera, M. A., & Almaguer-Vargas, G. (2023). Características y retos del sistema de cultivo nopal verdura en Cuautlancingo, Otumba. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 14(2), 211–222. <https://doi.org/10.29312/remexca.v14i2.3079>
- Robledo, A., Aguilera-Carbo, A. F., Prado-Barragan, A., Sepulveda-Torre, L., Rodríguez-Herrera, R., Contreras-Esquivel, J. C., & Aguilar, C. N. (2017). Kinetics of Ellagic Acid Accumulation By Solid-State Fermentation. En *Theoretical Models and Experimental Approaches in Physical Chemistry*. Apple Academic Press.
- Rodríguez, H. (2009). *Cultivo Orgánico del Nopal*. Editorial Trillas S.A. de C. V. México. Primera edición. Publicado el 03 agosto del 2009 ISBN 978-607-17-0251-7. 76p.
- Rodríguez, J. (2012). *PCTI 108. ALIMENTOS RICOS EN PROTEÍNA: SISTEMA NOPAL-PROCESO MICROBIANO – PCTI – Ciencia, Tecnología e Innovación*. <https://pcti.mx/articulos/pcti-118-alimentos-ricos-en-proteina-sistema-nopal-proceso-microbiano/>
- Rodríguez-Felix, A., & Cantwell, M. (1988). Developmental changes in composition and quality of prickly pear cactus cladodes (nopalitos). *Plant Foods for Human Nutrition*, 38(1), 83–93. <https://doi.org/10.1007/BF01092314>



- Rodríguez-Félix, A., Fortiz-Hernández, J., Rodríguez-Félix, A., & Fortiz-Hernández, J. (2016). Calidad de nopal fresco cortado envasado con películas plásticas durante el almacenamiento a baja temperatura. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 7(4), 793–807. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S2007-09342016000400793&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2007-09342016000400793&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Rosfarizan, M., & Ariff, A. B. (2000). Kinetics of kojic acid fermentation by *Aspergillus flavus* using different types and concentrations of carbon and nitrogen sources. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 25(1), 20–24. <https://doi.org/10.1038/sj.jim.7000017>
- Sáenz, C., & Berger, H. (2006). *Utilización agroindustrial del nopal*. Food & Agriculture Org.
- Sanjotha, G., Shivasharana, C. T., & Manawadi, S. (2019). An In vitro Approach for Evaluating Antimicrobial Activity and Production of Kojic Acid by *Aspergillus flavus* Isolated from Karwar Region. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 13, 2261–2272. <https://doi.org/10.22207/JPAM.13.4.40>
- Saruno, R., Kato, F., & Ikeno, T. (1979). Kojic acid, a tyrosinase inhibitor from *Aspergillus albus*. *Agricultural and Biological Chemistry*, 43(6), 1337–1338. <https://doi.org/10.1080/00021369.1979.10863620>
- Sauer, M., Mattanovich, D., & Marx, H. (2013). 12—Microbial production of organic acids for use in food. En B. McNeil, D. Archer, I. Giavasis, & L. Harvey (Eds.), *Microbial Production of Food Ingredients, Enzymes and Nutraceuticals* (pp. 288–320). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9780857093547.2.288>
- Sciancalepore, V., & Longone, V. (2002, mayo 1). *Polyphenol oxidase activity and browning in green olives* (world). ACS Publications; American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/jf00122a035>
- Shah, H. M. S., Khan, A. S., & Ali, S. (2017). Pre-storage kojic acid application delays pericarp browning and maintains antioxidant activities of litchi fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 132, 154–161. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.06.004>

- SIAP. (2023). *¿Y el nopal ingreso en la dieta simbólica y real de los mexicanos!* Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <http://www.gob.mx/siap/articulos/y-el-nopal-ingreso-en-la-dieta-simbolica-y-real-de-los-mexicanos>
- Uchino, K., Nagawa, M., Tonosaki, Y., Oda, M., & Fukuchi, A. (1988). Kojic Acid as an Anti-speck Agent. *Agricultural and Biological Chemistry*, 52(10), 2609–2610. <https://doi.org/10.1080/00021369.1988.10869087>
- Ulloa Leitón, A. (2020). *Manejo Integral De Las Glóquidas Del Nopal Tunero*. <http://repositorio.chapingo.edu.mx:8080/handle/20.500.12098/535>
- Villa, N. (2023). *Exports of nopal cactus from Mexico from 2012 to 2021(in million U.S. dollars)* [https://www.statista.com/statistics/912089/mexico-nopal-cactus-exports-value/]. Exports of Nopal Cactus from Mexico from 2012 to 2021. <https://www.statista.com/statistics/912089/mexico-nopal-cactus-exports-value/>
- Wang, Y.-X., Wang, S.-Y., Beta, T., Shahriar, M., Laborda, P., & Herrera-Balandrano, D. D. (2023). El ácido kójico induce resistencia contra *Colletotrichum brevisporum* y mejora las propiedades antioxidantes de la papaya poscosecha. *Food Control*, 144, 109405. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109405>
- Yabuta, T. (1924). The constitution of Koji Acid, a  $\gamma$ -Pyrone Derivative Formed by *Aspergillus Oryzae* from Carbohydrates. *Bulletin of the Agricultural Chemical Society of Japan*, 1(1), 1–3. <https://doi.org/10.1271/bbb1924.1.1>
- Yan, Z., Shi, J., Gao, L., Wang, Q., & Zuo, J. (2020). The combined treatment of broccoli florets with kojic acid and calcium chloride maintains post-harvest quality and inhibits off-odor production. *Scientia Horticulturae*, 262, 109019. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109019>
- Yu, R., Liu, J., Wang, Y., Wang, H., & Zhang, H. (2021). *Aspergillus niger* as a Secondary Metabolite Factory. *Frontiers in Chemistry*, 9. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.701022>
- Yu, Z., & Dahlgren, R. A. (2000). Evaluation of Methods for Measuring Polyphenols in Conifer Foliage. *Journal of Chemical Ecology*, 26(9), 2119–2140. <https://doi.org/10.1023/A:1005568416040>